Postverlagsort Berlin

FRESENIUS'
ZEITSCHRIFT FÜR ANALYTISCHE CHEMIE

BEGRÜNDET VON REMIGIUS FRESENIUS

UNTER MITWIRKUNG DER FACHGRUPPE ANALYTISCHE CHEMIE
DER GESELLSCHAFT DEUTSCHER CHEMIKER
VERTRETEN DURCH
H. KIENITZ W. KOCH H. LUTHER H. SPECKER

HERAUSGEGEBEN VON

W. FRESENIUS UND A. KURTENACKER

176. BAND, 3. HEFT

MIT 17 ABBILDUNGEN IM TEXT

(ABGESCHLOSSEN AM 10. AUGUST 1960)

SPRINGER-VERLAG BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG
J.F. BERGMANN · MÜNCHEN
1960

Z. analyt. Chem.

Fresenius' Zeitschrift für analytische Chemie

Begründet 1862 und herausgegeben bis Band 20 (1881) von *C. Remigius Fresenius*, bis Band 36 (1897) von *C. Remigius* und *Heinrich Fresenius*, Band 37—58 herausgegeben von *Heinrich* und *Wilhelm Fresenius* und *Ernst Hinz*, Band 59 (1920) bis Band 105 von *Wilhelm Remigius* und *Ludwig Fresenius*, Band 105 (1936) von *Remigius* und *Ludwig Fresenius*, Band 106—127 (1944) von *Remigius Fresenius*, Band 128 (1948) herausgegeben von *A. Kurtenacker* und ab Band 129 (1949) von *W. Fresenius* und *A. Kurtenacker*. Bis Band 59 (1919) Wiesbaden, C.W. Kreidel, Band 59—62 (1922) Wiesbaden, C.W. Kreidel, und München, J.F. Bergmann, Band 63—127 (1944) München, J.F. Bergmann, ab Band 128 (1948) München, Bergmann, und Berlin, Springer.

Die **„Zeitschrift für analytische Chemie"** erscheint nach Maßgabe des eingehenden Materials in Heften, die zu Bänden vereinigt werden. Der Preis des Bandes beträgt DM 54,—. Sie bringt als „Originalabhandlungen" selbständige Untersuchungen aus allen Gebieten der analytischen Chemie.

Grundsätzlich dürfen nur Arbeiten eingereicht werden, die vorher weder im Inland noch im Ausland veröffentlicht worden sind. Der Autor verpflichtet sich, sie auch nachträglich nicht an anderer Stelle zu publizieren. Mit der Annahme des Manuskriptes und seiner Veröffentlichung durch den Verlag geht das Verlagsrecht für alle Sprachen und Länder einschließlich des Rechts der fotomechanischen Wiedergabe oder einer sonstigen Vervielfältigung an den Verlag über. Jedoch wird gewerblichen Unternehmen für den innerbetrieblichen Gebrauch nach Maßgabe des zwischen dem Börsenverein des Deutschen Buchhandels e.V. und dem Bundesverband der Deutschen Industrie abgeschlossenen Rahmenabkommens die Anfertigung einer fotomechanischen Vervielfältigung gestattet. Wenn für diese Zeitschrift kein Pauschalabkommen mit dem Verlag vereinbart worden ist, ist eine Wertmarke im Betrage von DM 0,30 pro Seite zu verwenden. *Der Verlag läßt diese Beträge den Autorenverbänden zufließen.*

Der „Bericht über die Fortschritte der analytischen Chemie" enthält, zum Teil in Form von Sammelberichten, kritische Referate über die auf den einzelnen Gebieten an anderer Stelle veröffentlichten Arbeiten über analytische Chemie.

Originalarbeiten und alle sie betreffenden Zuschriften sind zu richten an die

Redaktion der Zeitschrift für analytische Chemie,
Wiesbaden, Kapellenstraße 11/15.

Für Originalabhandlungen wird ein Unkostenersatz von DM 32,— je Druckbogen, jedoch nicht mehr als $1^1/_2$ Druckbogen für einen Beitrag vergütet.

Die Mitarbeiter erhalten von ihrer Arbeit zusammen 40 Sonderdrucke.

Auf möglichst rasche Veröffentlichung der eingelaufenen Arbeiten wird besonderer Wert gelegt.

Springer-Verlag
Heidelberg, Neuenheimer Landstraße 28—30
Fernsprecher 27901
Berlin-Wilmersdorf, Heidelberger Platz 3
Fernsprecher 830301

J. F. Bergmann
München 27, Trogerstraße 56
Fernsprecher 440535

Band 176 **Inhaltsverzeichnis** Heft 3

Originalabhandlungen

Seite

Zutshi, K., and J. N. Gaur, Volumetric Estimation of Thorium by Ferrocyanide. . 161

Deckert, W., Die exakte Bestimmung niedriger Kohlensäurekonzentrationen in Luft. Mit 1 Textabbildung 163

Majumdar, A. K., and C. P. Savariar, Spectrophotometric Determination of Beryllium and Zirconium using Chromotrope-2C. With 6 Figures in the Text . . 170

Kainz, G., und H. Horwatitsch, Zur Kenntnis der Oxydationsvorgänge bei der Elementaranalyse. IV. Mitteilung. Über den Einfluß der Schichtlänge und der Strömungsgeschwindigkeit bei der Verbrennungsanalyse. Mit 4 Textabbildungen . . 175

Hartkamp, H., Photometrische Bestimmung kleiner Kupfergehalte mit 6-Methylpyridin-2-aldoxim. Mit 6 Textabbildungen 185

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Handelsnamen, Warenbezeichnungen usw. in dieser Zeitschrift berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, daß solche Namen im Sinn der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürften.

Chemical Laboratories, Maharani's College, Jaipur/Rajasthan (India)

Volumetric Estimation of Thorium by Ferrocyanide

By
K. Zutshi and J. N. Gaur

(Received October 14, 1959)

The composition of metallic ferrocyanide of the common metals has been studied by application of physico-chemical methods by various workers. Kolthoff[4], Britton and Dodd[1], Modain-Monral and Paris[5] and Dutoit and Grobet[2] have carried out an extensive work on metallic ferrocyanides. Since no work was done on thorium ferrocyanide we investigated the composition of thorium ferrocyanide by physico-chemical methods[3] and found the formula $ThFe(CN)_6$. In the present paper the physico-chemical studies on the composition of thorium ferrocyanide have been extended to determine thorium by volumetric method.

Experimental

Analar (B. D. H.) chemicals were used. Thorium nitrate solution was estimated as ThO_2 (Vogel[6]). Potassium ferrocyanide solution was estimated by titrating it with standard ceric sulphate solution.

Table. *Volumetric Estimation of Thorium by Ferrocyanide*

S. No.	Volume and strength of $Th(NO_3)_4$ solution	Volume and strength of $K_4Fe(CN)_6$ solu. added	Volume and strength of $Ce(SO_4)_2$ solu. used in back titration	Volume of $K_4Fe(CN)_6$ solu. consumed	Weight of thorium by ferrocyanide method	Weight of thorium by oxalate method
	ml	ml	ml	ml	g	g
	0.04 M $Th(NO_3)_4$	0.2 M $K_4Fe(CN)_6$	0.037 M $Ce(SO_4)_2$	0.2 M $K_4Fe(CN)_6$		
1.	10	5	16.7	2.0	0.09285	0.09285
2.	9	5	17.4	1.78	0.08262	0.08356
3.	8	5	18.4	1.6	0.07427	0.07429
	0.02 M $Th(NO_3)_4$					
4.	20	5	16.7	2.0	0.09285	0.09285
5.	18	5	17.3	1.8	0.08356	0.08356
6.	16	5	18.3	1.62	0.07518	0.07429
	0.01 M $Th(NO_3)_4$	0.1 M $K_4Fe(CN)_6$		0.1 M $K_4Fe(CN)_6$		
7.	40	10	16.8	3.78	0.1030	0.09285
8.	36	10	17.3	3.6	0.08356	0.08356
9.	32	10	18.3	3.24	0.07518	0.07429

A known quantity of thorium nitrate solution was taken into a beaker and a known quantity of excess of potassium ferrocyanide solution was added to it. The mixture was kept overnight after a thorough shaking. The precipitate was filtered and the excess of the ferrocyanide obtained in the filtrate after washing was titrated against a standard ceric sulphate solution by using phenanthroline ferrous complex as indicator. A preliminary blank titration was also done with ferrocyanide against a standard ceric sulphate solution. From the titre values, the amount of ferrocyanide reacting was calculated.

Different concentrations of thorium nitrate and potassium ferrocyanide were tried and the accuracy of the method for the titration relationship determined. Some typical sets of results are recorded in the Table.

It is evident from the observations that the complex formation is supported by our previous observations by the physico-chemical methods[3]. This gives a simple method for the estimation of thorium volumetrically. The method, however, has a definite advantage over the gravimetric method.

Summary

Precipitation of $ThFe(CN)_6$ from a solution of thorium nitrate with potassium ferrocyanide at varius concentrations has been carried out for the estimation of thorium. The precipitate was filtered and the excess of ferrocyanide was titrated with standard ceric sulphate solution. The amount of potassium ferrocyanide thus used was obtained and the amount of thorium calculated.

Having established by the physico-chemical methods that the formula for thorium ferrocyanide is $ThFe(CN)_6$, under all conditions, it has now become possible to estimate thorium volumetrically by the ferrocyanide method.

References

[1] Britton, H. T. S., and E. N. Dodd: J. chem. Soc. (London) **1933**, 1543. — [2] Dutoit, P., and E. Grobet: J. Chim. physique **19**, 324 (1921); cf. Z. analyt. Chem. **78**, 444 (1929). — [3] Gaur, J. N., and A. K. Bhattacharya: J. Indian chem. Soc. **31**, No. 6 (1954). — [4] Kolthoff, I. M.: Z. analyt. Chem. **62**, 209 (1923). — [5] Modain-Monral and Paris: C. R. Acad. Sci. **198**, 1154 (1934). — [6] Vogel, A. I.: A Text Book of Quantitative Inorganic Analysis, pp. 557, 558.

Miss Kamala Zutshi, M. Sc., Ph. D., Chemical Laboratories, Maharani's College, Jaipur/Rajasthan (India)

Aus der Untersuchungsanstalt für Städtehygiene im Hygienischen Institut der Freien und Hansestadt Hamburg

Die exakte Bestimmung niedriger Kohlensäurekonzentrationen in Luft

Von

WALTER DECKERT

Mit 1 Textabbildung

(Eingegangen am 19. März 1960)

Bei gasvolumetrischen CO_2-Bestimmungen im Orsatapparat liegt die untere Bestimmungsgrenze bei 0,1—0,2 Vol-%. Der Analysenfehler bei dieser Größenordnung der Konzentration liegt infolge der ungenauen Ablesungsmöglichkeit des Volumens bei etwa $\pm$ 25%.

PETERSON u. PALMQUIST[6] haben ein transportables, nach dem Orsatprinzip arbeitendes mikroanalytisches Gerät beschrieben, mit dem man CO_2-Konzentrationen noch bis herab zu 0,02 Vol-% bestimmen kann, ohne daß allerdings dabei die prozentuale Fehlerabweichung bei der Ablesung verbessert wird. Das Gerät dürfte deshalb und auch wegen seiner schwierigen Handhabung kaum eine praktische Verwendung finden.

Die klassische Methode der CO_2-Bestimmung in der Luft ist für die Hygieniker das alte Pettenkofer-Verfahren, das jedoch in der Praxis nur noch selten angewandt wird, teils weil für jede Bestimmung 5 l Luft benötigt werden, die man in 5 l-Flaschen vom Ort der Probenahme ins Laboratorium transportieren muß, teils weil die Art der Flaschenfüllung mit Blasebalg sehr unbequem und reich an unverläßlichen Momenten ist und teils, weil die Disproportion zwischen der großen Glasoberfläche im Flascheninnern und den wenigen Millilitern der eingebrachten Barytlauge stört, da hierbei beachtenswerte Mengen SiO_2 aus dem Glas sich herauslösen können, was überhöhte CO_2-Werte zur Folge hat. Auch die Abänderungen der Pettenkoferschen Methode durch LEUSDEN[8] und DERKS[1] haben die Anwendbarkeit des Verfahrens nicht verbessert.

Heute werden bei allen Luftanalysen nach Möglichkeit solche Methoden bevorzugt, bei denen am Ort der Probenahme das benötigte Luftvolumen durch ein Absorptionsmittel geleitet wird, das den gesuchten Stoff quantitativ bindet, und dessen Transport und spätere analytische Verarbeitung keinerlei Schwierigkeiten macht.

Alkalilauge und Barytlauge sind an sich die gebräuchlichsten Absorptionsmittel für Kohlensäure. Zu beachten ist aber, daß selbst bei sehr langsamem Durchleiten der kohlensäurehaltigen Luft (z. B. 1 l in 5 min)

durch Barytlauge, 0,1 n oder 0,01 n Natronlauge keine quantitative Absorption erfolgt. Unzulängliche Angaben in der Literatur, wie z.B. die von KIENITZ im Kapitel „Gasanalytische und gasvolumetrische Methoden" im Band II der „Methoden der organischen Chemie" von HOUBEN-WEYL[4] scheinen dem zu widersprechen. Wir überzeugten uns aber, daß selbst eine 2. und 3. Vorlage zur quantitativen Absorption nicht ausreicht, wie weiter unten aus Tab. 1 näher ersichtlich ist. Man kann allerdings so verfahren, daß man die absorbierte CO_2-Menge in 3 nacheinandergeschalteten Vorlagen getrennt bestimmt, die Werte graphisch aufzeichnet und aus dem Kurvenverlauf den wahren CO_2-Gehalt errechnet. Arbeitet man stets unter absolut gleichartigen Bedingungen, kann man sogar aus Gründen der Zeitersparnis sich mit einer einzigen Vorlage begnügen und den gefundenen CO_2-Wert mit einem für die Versuchsanordnung ein für alle Mal ermittelten Faktor korrigieren. Erfahrungsgemäß sind aber die Versuchsbedingungen keineswegs immer die gleichen. Und so ergeben sich Resultate, die ganz erheblich von dem richtigen Wert abweichen können.

Bei solcher Sachlage schien es wünschenswert, die Bedingungen für eine quantitative CO_2-Absorption zu verbessern. Die Hauptfaktoren, die die Absorption löslicher Gase im Gemisch mit Luft in der vorgegebenen Menge eines Lösungsmittels fördern, sind Temperaturerniedrigung und die möglichst feine Dispergierung der durchgeleiteten Luft. Der Temperaturerniedrigung von wäßrigen Absorptionsvorlagen sind wegen der Gefahr des Einfrierens enge Grenzen gesetzt. Es liegt aber nahe, statt dessen alkoholische Lösungen zu verwenden, die sich durch Kältemischungen leicht auf $-80°$ C und tiefer abkühlen lassen.

Um Gase beim Durchleiten durch ein Absorptionsmittel möglichst fein zu verteilen, verwendet man meistens Gaswaschflaschen mit großflächigen Glassinterfritten. Der hohe Widerstand dieser Fritten gestattet jedoch kein kontinuierliches langsames Durchleiten bei niedrigen Drucken. Langsames Durchleiten ist aber bei tiefgekühlten Vorlagen eine Notwendigkeit, weil sonst die erforderliche tiefe Temperatur nicht gehalten werden kann und die alkoholischen Vorlagen schnell verdunsten. In solchen Fällen haben sich die sogenannten „Impinger"-Vorlagen bestens bewährt, die in Amerika schon vor Jahrzehnten entwickelt wurden und dort standardisiert sind. In Deutschland sind sie allerdings noch wenig bekannt. Das Prinzip des „impingement" beruht auf einem zentrierten Injizieren der abgesaugten Luft durch die düsenförmig ausgezogene und abgeschliffene Spitze des Einleitungsrohres gegen eine Prallplatte. Das „impingement" wurde ursprünglich in erster Linie für die Sammlung von Stäuben benutzt. Es zeigte sich jedoch, daß es auch die Absorptionswirkung von Gasen in Flüssigkeitsvorlagen beträchtlich erhöht.

Näheres über die verschiedenen Ausführungsformen von „Impinger"-Geräten findet sich in der Monographie von M. B. Jacobs: „The Analytical Chemistry of Industrial Poisons, Hazards and Solvents[5]". Im Jahre 1944 wurde von der Engineering Unit im U.S. Publ. Health Service[2] ein ganz aus Pyrexglas hergestelltes „All-Glas-Impinger" beschrieben, dem das bei den nachstehenden Versuchen benutzte Absorptionsgefäß nachgebildet ist. Abb. 1 zeigt die Form und die Maße des benutzten Geräts.

Wir verwenden in den tiefgekühlten „Impinger"-Vorlagen zwei Absorptionsmittel, nämlich alkoholische Kalilauge und alkoholische Ammoniaklösung. Während die Carbonatbestimmung im ersten Fall in Analogie zu dem bekannten Verfahren in wäßrigen Lösungen durch Säuretitration erfolgt, gründet sich die zweite Methode auf die bisher nicht beachtete Möglichkeit, Ammoniumcarbonat in hochprozentiger alkoholischer Lösung durch Natronlauge oder besser noch durch alkoholische Kalilauge direkt zu titrieren.

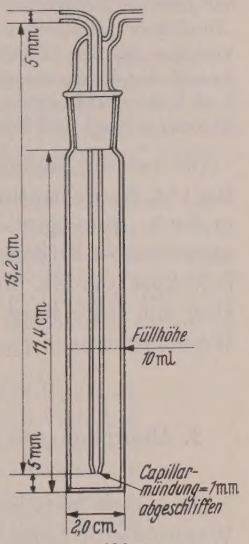


Abb. 1
„Impinger"-Waschflasche

1. Absorption der Kohlensäure in 0,1 n alkoholischer Kalilauge

Man bereitet eine Kältemischung aus fester Kohlensäure und Methanol in einer weiten aber niedrigen Thermosflasche, in der 3 Vollglas-„Impinger"-Röhrchen gemäß Abb. 1 Platz haben. Jedes Röhrchen wird mit 0,1 n alkoholischer Kalilauge beschickt und die 3 Röhrchen werden durch Gummischlauchverbindung hintereinander geschaltet. Die Röhrchen sind gleichzeitig und fest verschlossen in die Thermosflasche einzusetzen, weil sonst leicht hochkonzentriertes CO_2, das aus der Thermosflasche dauernd entweicht, angesaugt werden könnte. Durch dieses leicht transportable Aggregat saugt man, je nach der gegebenen CO_2-Konzentration, 1—10 l Luft mit einer Geschwindigkeit, die 200 ml/min nicht übersteigt. Will man die Probe unmittelbar der Luft entnehmen, muß man diese durch einen etwa 3 m langen Capillarschlauch heranholen, damit die aus dem Kältegemisch perlende Kohlensäure unter keinen Umständen mit angesaugt wird. Vor Eintritt in das 1. „Impinger"-Röhrchen ist der Luftstrom noch durch ein mit Magnesiumperchlorat gefülltes U-Rohr zu trocknen, weil sonst die Luftfeuchtigkeit gefriert und das Einleitungsrohr verstopfen kann. Nach beendeter Probenahme werden die Röhrchen voneinander gelöst und beiderseits verschlossen. Sie können bei Zimmertemperatur aufbewahrt werden.

Im Laboratorium werden je 5 ml des Inhalts der „Impinger" bei gleicher Temperatur wie zur Zeit der Beschickung mittels Vollpipette in ein Titrierkölbchen gebracht, 5 ml CO_2-freies Wasser und 1 Tr. Phenolphthalein zugesetzt und mit 0,1 n Schwefelsäure aus einer Bürette titriert, bis ein einziger Tropfen den Farbumschlag nach Farblos bewirkt. Alsdann setzt man 1 Tr. Methylrot zu und vollendet die Titration bis zum Farbumschlag nach deutlich Rot.

Die Berechnung des CO_2-Gehaltes geschieht auf bekannte Art (siehe z. B. [7]).

Es darf nie versäumt werden, eine Blindbestimmung von der benutzten 0,1 n alkoholischen Kalilauge und dem benutzten Verdünnungswasser unter Verwendung der gleichen Mengen anzustellen und den Blindwert von dem Analysenwert jedes „Impingers" abzuziehen. Die Summe des CO_2-Gehalts in den drei „Impinger"-Vorlagen ist der CO_2-Gehalt der untersuchten Luftprobe. Dividiert durch die Anzahl der durchgesaugten Liter Luft und 1,96 als dem Milligrammgewicht von 1 ml Kohlensäure ergibt sich der Gehalt in Vol-‰. (Falls erforderlich, wird auf Barometerstand und Temperatur umgerechnet.)

Die zweite „Impinger"-Vorlage wird stets noch etwas CO_2 enthalten. Bei CO_2-Konzentrationen über 1 Vol-‰ findet man auch noch Spuren in der 3. „Impinger"-Vorlage. Bei CO_2-Konzentrationen über 10 Vol-‰ müssen selbst bei diesem Verfahren CO_2-Verluste in Kauf genommen oder berechnet werden. Bei derart hohen CO_2-Konzentrationen kann man aber mit Hilfe einer Orsatbestimmung schon hinreichend zuverlässige Werte erhalten.

2. Absorption von Kohlensäure in einer 0,25%igen alkoholischen Ammoniaklösung

Diese neue Methode geht auf eine Beobachtung von WILLSTÄTTER u. WALDSCHMIDT-LEITZ[10] zurück. Nach Versuchen dieser Autoren werden die Aminogruppen von Aminosäuren in hochprozentiger alkoholischer Lösung blockiert, so daß die Carboxylgruppen direkt durch Natronlauge bei Verwendung von Phenolphthalein oder besser von Thymolphthalein[3,9] titriert werden können. WILLSTÄTTER und seine Mitarbeiter stellten auch bereits fest, daß sich die Säuregruppen von Ammoniumoxalat und Ammoniumrhodanid in alkoholischer Lösung ebenso wie die Aminosäuren verhalten. Wir überzeugten uns, daß sich Ammoniumcarbonat bzw. Carbaminat nicht anders verhalten. In 90%iger oder stärkerer alkoholischer Lösung erfolgt der Umschlag mit Thymolphthalein von Farblos nach Blau bei Verwendung von 0,1 n NaOH-Lösung durch einen einzigen Tropfen aus der Mikrobürette. Die Blaufärbung hält mindestens einige Minuten an, ehe die Lösung durch Aufnahme von Kohlensäure aus der Luft des betreffenden Raumes wieder entfärbt wird.

Die Absorptionslösung wird aus 1 Teil 25%igem Ammoniak und 99 Teilen absolutem Alkohol hergestellt.

Man benutzt auch hier 3 mit je 10 ml der Absorptionslösung beschickte, auf −80° C tiefgekühlte „Impinger"-Röhrchen. Die Kohlensäure wird in diesen Vorlagen als Ammoniumcarbonat zurückgehalten. Nach beendetem Durchleiten der Luft spült man die Einleitungsrohre der tiefgekühlten „Impinger"-Vorlagen mit 0,5 ml CO_2-freiem Wasser innen und außen ab. Dann setzt man 5—10 Tr. einer 1%igen Lösung von Thymolphthalein in Alkohol zu und titriert in den Vorlagen mit 0,1 n Natronlauge aus einer Mikrobürette. 1 ml verbrauchter 0,1 n Natronlauge entspricht 4,4 mg CO_2.

Beleganalysen

Die Befunde in Tab. 1 zeigen das Absorptionsvermögen von 4 verschiedenen Absorptionsmitteln bei gleicher Versuchsanordnung und gleicher vorgegebener Kohlensäuremenge an.

Ein kohlensäurefrei gemachter Luftstrom passierte zunächst ein weites Reagensrohr, in dem durch Eintropfen von 25%iger Schwefelsäure aus eingewogenem Natriumcarbonat ($Na_2CO_4 \cdot 10H_2O$) p. a. die entsprechende Menge CO_2 entwickelt wurde. Mit einer Geschwindigkeit von 1 l/5 min wurde der CO_2-haltige Luftstrom dann durch 3 mit je 10 ml des Absorptionsmittels beschickte „Impinger"-Vorlagen geführt.

Um die angesaugte Raumluft kohlensäurefrei und trocken zu machen, wurde sie durch folgende Reinigungsvorlagen geleitet: konz. Schwefelsäure, 10%ige alkalische Permanganatlösung, 30%ige Natronlauge, trocknes Magnesiumperchlorat und Natronkalk. Zur Feststellung der Kohlensäurefreiheit der gereinigten Luft wurden 10 l durch die Versuchsapparatur geleitet, wobei die auf −80° C tiefgekühlten „Impinger"-Vorlagen gemäß Methode 2 mit alkoholischer Ammoniaklösung beschickt waren. Die Titration der Vorlagen zeigte folgendes Ergebnis:

Blindprobe mit 10 ml alkohol. NH_3:	0,03	0,1 n NaOH-Verbrauch
Vorlage I	0,07	0,1 n NaOH-Verbrauch
Vorlage II	0,04	0,1 n NaOH-Verbrauch
Vorlage III:	0,03	0,1 n NaOH-Verbrauch
Total-Verbrauch I—III:	0,14	0,1 n NaOH-Verbrauch
minus 3mal Blindwert:	0,09	0,1 n NaOH-Verbrauch
Restmenge CO_2 in 10 l Luft	0,05	0,1 n NaOH-Verbrauch

0,05 ml 0,1 n NaOH-Lösung entsprechen 0,22 mg CO_2/10 l Luft, das sind 0,0011 Vol-% oder 11 ppm. Dieser Restgehalt ist bei den Werten in Tab. 1 je nach der durchgesaugten Luftmenge von den Analysenwerten abgezogen.

Die Versuchsergebnisse (Tab. 1) sind ein eindeutiger Beweis für die völlig unzureichende Absorption von CO_2 in wäßriger Natronlauge oder

Tabelle 1. *Vergleich des Absorptionsvermögens von 4 verschiedenen Absorptionsmitteln für Kohlensäure*

Vers. Nr.	Vorgelegt mg CO_2	je „Impinger"-Vorlage	Absorbierte CO_2-Menge in den Absorptionsmitteln: wäßrige 0,1 n NaOH-Lösung (20° C)		wäßrige $Ba(OH)_2$-Lösung (20° C)		alkohol. 0,1 n KOH-Lösung (−80° C)		alkohol. 1%ige NH_3-Lösung (−80° C)	
			mg	%	mg	%	mg	%	mg	%
1	4,40	I	1,56	35,5	1,76	40,0	4,18	95,0	3,61	82,0
		II	1,01	23,0	1,06	24,1	0,22	5,0	0,64	14,3
		III	0,66	15,0	0,64	14,5	0,00	0,0	0,14	3,2
		Summe	3,23	73,5	3,46	78,6	4,40	100,0	4,39	99,5
2	44,0	I	12,72	28,9	14,48	32,9	36,96	84,0	31,24	71,0
		II	9,06	20,6	9,70	22,1	5,94	13,5	9,42	21,4
		III	6,25	14,2	6,58	15,0	0,92	2,1	2,82	6,4
		Summe	28,03	63,7	30,76	70,0	43,82	99,6	43,48	98,8

in Barytlauge von Raumtemperatur. Bei Verwendung von alkoholischer Kalilauge oder alkoholischer Ammoniaklösung ist die Absorption der Kohlensäure dagegen bei 3 hintereinander geschalteten tiefgekühlten Vorlagen praktisch vollkommen. Bei CO_2-Konzentrationen in der Größenordnung bis zu 0,1 Vol-% beträgt der Analysenfehler kaum mehr als 0,5%, und zwar im wesentlichen bedingt durch unvermeidliche Titrationsungenauigkeiten. — Bei höheren CO_2-Konzentrationen macht sich allmählich auch ein geringer CO_2-Verlust infolge unvollständiger Absorption bemerkbar. Das gilt besonders bei Verwendung von alkoholischer NH_3-Lösung als Absorptionsmittel. Aber noch bei CO_2-Konzentrationen in der Größenordnung von 1 Vol-% ist der Gesamtfehler kaum größer als 1—2%.

Tabelle 2. *Praktische CO_2-Bestimmungen in Raumluft*

Vers. Nr.	Luftmenge l	Durchsauggeschwindigkeit	Absorbierte CO_2-Menge in		
			Vorlage	alkohol. 0,1 n KOH-Lösung (—80° C)	alkohol. 1%ige NH_3-Lösung (—80° C)
1	10	1 l/5 min	I	7,79 mg	6,69 mg
			II	0,44 mg	1,19 mg
			III	0,00 mg	0,26 mg
			Summe	8,23 mg = 0,0419 Vol-%	8,14 mg = 0,0414 Vol-%
2	10	1 l/3 min	I	9,41 mg	8,71 mg
			II	1,41 mg	1,72 mg
			III	0,09 mg	0,35 mg
			Summe	10,91 mg = 0,0556 Vol-%	10,78 mg = 0,0549 Vol-%
3	2	1 l/5 min	I	1,27 mg	1,10 mg
			II	0,13 mg	0,26 mg
			III	0,00 mg	0,04 mg
			Summe	1,40 mg = 0,0358 Vol-%	1,40 mg = 0,0358 Vol-%

Tab. 2 enthält einige praktische Bestimmungen des CO_2-Gehalts in der Luft von verschiedenen Laboratoriumsräumen, wobei die Konzentrationsbestimmung jedesmal sowohl nach Methode 1 (alkoholische Kalilauge) als auch nach Methode 2 (alkoholische NH_3-Lösung) erfolgte.

Auch hier zeigt sich, daß die Methode 1 meist etwas genauere Werte liefert als Methode 2. Die Fehler (maximal — 1,2 bis — 1,3%) spielen jedoch bei praktischen Luftanalysen kaum eine Rolle. Als Vorzüge der Methode 2 sind hervorzuheben, daß bei ihr in der Vorlage selbst direkt titriert wird und daß ein bei längerem Durchleiten möglicher Alkoholschwund oder Ammoniakschwund nicht berücksichtigt werden muß. Bei Methode 1 sind demgegenüber Umfüllung des Vorlageinhalts und Verdünnung mit Wasser vor der Rücktitration notwendig; ein etwaiger

Alkoholschwund darf wegen der Art der Rücktitration nicht übersehen werden. Es bestehen also keine Bedenken, die Ammoniumcarbonatbestimmungsmethode (Methode 2) — trotz geringfügiger CO_2-Verluste — in der Praxis zu bevorzugen.

Zusammenfassung

Bei den stark gestiegenen Anforderungen an die Exaktheit von Luftanalysen sind die allgemein benutzten Methoden, niedrige CO_2-Gehalte in Luft zu bestimmen, unbrauchbar. Das übliche Rücktitrationsverfahren kann dadurch verbessert werden, daß man tiefgekühlte alkoholische Lauge als Absorptionsflüssigkeit verwendet. Noch einfacher ist eine neu ausgearbeitete Methode, die auf der quantitativen Absorption des CO_2-Gehalts in 0,25%igem ammoniakalischem Alkohol bei −80° C und Titration des gebildeten Carbonats in der alkoholischen Lösung mit 0,1 n NaOH-Lösung und Thymolphthalein als Indicator beruht. Mit Hilfe dieser Methode kann der CO_2-Gehalt von Raumluft, atmosphärischer Luft und von kohlensäurearmen Abgasen mit einer Genauigkeit von mindestens 99—101% bestimmt werden.

Literatur

[1] Derks, J.: Arch. Hyg. Bakteriol. **110**, 329 (1933). — [2] Engineering Unit. Div. Ind. Hyg. U.S. Publ. Health Service: Ind. Engng. Chem, anal. Edit. **16**, 346 (1944). — [3] Grassmann, W., u. W. Heyde: Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. **183**, 32 (1929). — [4] Houben-Weyl: Methoden der organischen Chemie. II. Bd., S. 770. Berlin: Springer 1945. — [5] Jacobs, M. B.: The Analytical Chemistry of Industrial Poisons, Hazards and Solvents, 2nd Edit., p. 133—143, Intersci. Publ., Inc.; New York 1949. — [6] Jones, E. P.: Ind. Engng. Chem., anal. Edit. **2**, 195 (1930); vgl. diese Z. **85**, 445 (1931). — [7] Klut-Olszewski: Untersuchung des Wassers an Ort und Stelle, S. 54. Berlin: Springer 1945. — [8] Leusden, F. P.: Z. Hyg. Infektionskrankh. **109**, 213 (1929). — [9] Waldschmidt-Leitz, E.: Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. **132**, 181 (1923). — [10] Willstätter, R., u. E. Waldschmidt-Leitz: Ber. dtsch. chem. Ges. **54**, II, 2988 (1921); vgl. diese Z. **64**, 458 (1924).

Prof. Dr. W. Deckert, Untersuchungsanstalt für Städtehygiene im Hygienischen Institut, Hamburg 36, Gorch-Fock-Wall 15/17

Department of Inorganic and Analytical Chemistry Jadavpur University, Calcutta (India)

Spectrophotometric Determination of Beryllium and Zirconium using Chromotrope-2C

By
A. K. Majumdar and C. P. Savariar

With 6 Figures in the Text

(Received April 5, 1960)

During the study on the analytical application of disodium salt of o-carboxyphenyl-azo-chromotropic acid, named chromotrope-2C[3], it was observed that both beryllium and zirconium gave colour reactions and from what follows this reagent can easily be claimed as one of the most sensitive spectrophotometric reagents for the detection and determination of beryllium. Zirconium with a marked tendency to form water insoluble complexes needs some sensitive methods for its estimation in the micro range, and in this paper has been described methods effective for the estimation of those two elements when present in traces.

Chromotrope 2C at p_H 6.0 and 1.5 gives reddish-violet complexes respectively with beryllium and zirconium with the absorption maximum at 580 nm. The colour intensities of the complexes are sensitive to p_H changes and moreover, the zirconium complex has a tendency to precipitate out of the solution which, however, has been avoided or suppressed by the addition of gelatin. Though 580 nm is the region of maximum absorption for both the colour systems, for all quantitative work 590 nm has been chosen as the most convenient wavelength at which the dye gives comparatively low absorption. The colour systems obey Beer's law from 0.025 to 0.375 ppm of beryllium and 2 to 12 ppm of zirconium. The optimum ranges[4], however, are from 0.125 to 0.375 ppm for beryllium and from 4 to 12 ppm for zirconium. The percent relative errors per 1% absolute photometric error are, respectively, 3.014 and 3.22. According to Sandell's[5] definition, the sensitivity of the reactions are 0.00067 μg Be per cm^2 and 0.027 μg Zr per cm^2. The composition of the complexes, studied by Job's method of continuous variation[1], as modified by Vosburgh and Cooper[6], suggests a metal to reagent ratio of 1:1, and the instability constants, as calculated from the absorbance data, measured at 28°C, are on the order of 10^{-6}.

Experimental

Apparatus and Solutions

Uvispek spectrophotometer and Cambridge p_H Indicator were the same as used in the previous work[2].

Standard Beryllium Solution. A standard beryllium solution was prepared from Analar beryllium nitrate. An aliquot portion of this solution on analysis by the usual tannin method gave 0.5702 mg of beryllium per ml. Weaker solutions were prepared, as needed, by proper dilution.

Standard Zirconium Solution. A standard zirconium solution was prepared by dissolving reagent quality zirconium oxychloride in 250 ml double distilled water, containing one ml of concentrated hydrochloric acid. From an aliquot portion of the solution, zirconium per ml of the solution was determined by precipitation as hydroxide and ignition to dioxide. Thus one ml of the solution was found to contain one mg of zirconium. Weaker solutions were prepared whenever necessary by dilution.

Reagent Solution. A 0.05% (w/v) reagent solution was prepared in double distilled water containing a few ml of methanol, which incidentally inhibits the growth of fungus in the solution.

Buffer Solution. A 5% (w/v) hexamine buffer of p_H 6.0 was prepared with the help of 1 N hydrochloric acid. The p_H of the solution was tested everyday before use.

Gelatin Solution. A 0.2% (w/v) gelatin solution was prepared and used to prevent the precipitation of the zirconium complex.

Solutions of the diverse ions were the same as used in the previous work[3].

Spectral Transmittancy Curves

Aliquots of the beryllium and zirconium solution were taken in different 25 ml flasks and to the beryllium solution, containing 6.25 μg of beryllium, were added 2.5 ml of the reagent solution, 1 ml of the buffer solution and a few ml of water to dilute to a convenient volume. The p_H of this solution was checked and adjusted to 6.0 and finally it was diluted to 25 ml. To the zirconium solution, containing 0.2 mg of zirconium, were added 1 ml of the gelatin solution, 4 ml of 0.1 N hydrochloric acid, 2.5 ml of the reagent solution and 5 ml of ethanol. The p_H of the solution was then adjusted to 1.5 and by dilution with water made up to 25 ml. The above procedures were maintained throughout the course of the work. Reagent blanks were also prepared under the above mentioned conditions.

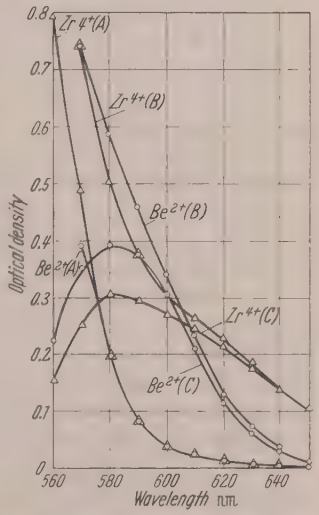


Fig. 1. Spectral transmittancy curves for beryllium and zirconium. Curves Be^{2+} (*A*) and Zr^{4+} (*A*): absorbance due to reagent against water as blank. Curves Be^{2+} (*B*) and Zr^{4+} (*B*): absorbance due to complexes against water as blank. Curves Be^{2+} (*C*) and Zr^{4+} (*C*): absorbance due to complexes against reagent as blank

Optical densities of the test and the reagent blank solutions against water blank and those of the test solutions against reagent blank were, respectively, measured and represented in Fig. 1. The curves in the figure show the complexes to have maximum absorption at 580 nm

when measured against their reagent blanks, but for all practical purposes 590 nm is found to be the best region as at this wavelength the reagent gives comparatively low absorption.

Effect of p_H, Reagent and Time

The colour intensities of the complexes were found to be very much sensitive to p_H changes. In Fig. 2 and 3, curves indicate the effect of p_H on the beryllium (0.25 ppm Be) and zirconium (8 ppm Zr) colour systems.

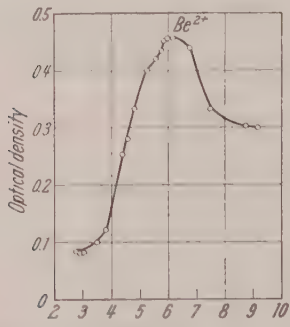


Fig. 2
Effect of p_H on the beryllium colour system

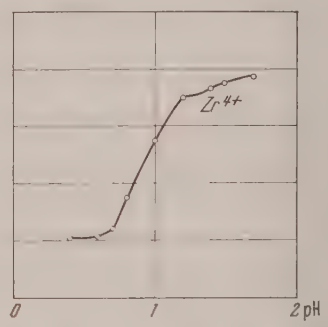


Fig. 3
Effect of p_H on the zirconium colour system

Varying the p_H from 2.75 to 9.2, colour intensity of the beryllium complex was found to be at its maximum only at p_H 6.0. Similar studies at the lower p_H range suggested a p_H of 1.5 to be the most suitable region for zirconium, as at a p_H above 1.8 turbidity appeared and below p_H 1.5 the optical density decreased considerably.

Studies on the effect of reagent concentration on both the colour systems showed that in a solution of volume 25 ml, 2.5 ml of the reagent solution were enough to produce maximum colour intensity with 0.25 ppm of beryllium or with 8.0 ppm of zirconium.

The beryllium complex is stable for only a short period, about 15 minutes, but the zirconium complex maintains its intensity for about 4 hours, after which, however, the optical density values decrease with time.

Beer's Law Curve, Optimum Range and Photometric Error

The colour systems obey Beer's law from 0.025 to 0.375 ppm of beryllium and 2 to 12 ppm for zirconium. Optimum concentration ranges, as obtained from the steep portion of the curves (Figs. 4 and 5), drawn according to the suggestion of Ringbom[4], by plotting % absorbancy as ordinate against log concentration as abscissa, are from 0.125 to 0.375 ppm for beryllium and from 4 to 12 ppm for zirconium. The percent

relative errors per 1% absolute photometric error for the above ranges are 3.014 for beryllium and 3.22 for zirconium.

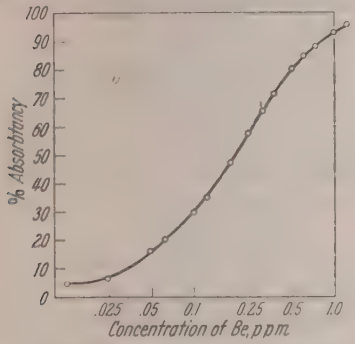


Fig. 4. Standard curve for beryllium

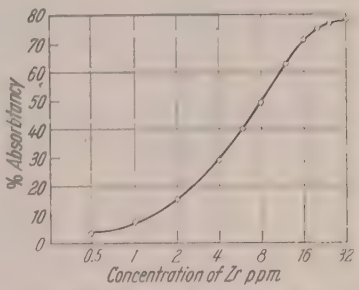


Fig. 5. Standard curve for zirconium

Effect of Diverse Ions

The following ions were found to interfere in the determination of beryllium and zirconium: titanyl, thorium, cerous, ceric, stannous, stannic, uranyl, ferric, nickel, cobalt, bismuth, phosphate, fluoride, oxalate, citrate, thiosulphate, vanadate, molybdate, tungstate and acetate. Those ions whose presence over a certain limit affects the colour systems are given in the Table with their tolerance limits.

Table. *Effect of Diverse Ions in the Determination of Beryllium and Zirconium* Be^{2+}: 0.25 ppm, reagent : 2.5 ml, buffer: 1 ml, p_H: 6.0. Zr^{4+}: 8 ppm. gelatin: 1 ml, reagent: 2.5 ml, alcohol: 5 ml, p_H: 1.5

Ions	Added as	Maximum tolerance limit, ppm		Ions	Added as	Maximum tolerance limit, ppm	
		Be^{2+}	Zr^{4+}			Be^{2+}	Zr^{4+}
Li^+	LiCl	40	150	Ba^{2+}	$BaCl_2$	15	20
Na^+	NaCl	40	200	Mg^{2+}	$MgCl_2$	10	25
K^+	KCl	40	200	Be^{2+}	$Be(NO_3)_2$	—	2
NH_4^+	NH_4Cl	30	100	Mn^{2+}	$MnSO_4$	—	10
Cd^{2+}	$CdCl_2$	10	25	SO_4^{2-}	Na_2SO_4	10	10
Ca^{2+}	$CaCl_2$	10	20	NO_3^-	KNO_3	15	10
Sr^{2+}	$Sr(NO_3)_2$	10	10				

Composition of the Complex

The composition of the complexes of beryllium and zirconium was studied by Job's method. The absorptions of the complimentary mixtures of equimolecular solutions ($2.5 \cdot 10^{-4}$ M) of beryllium and reagent and ($0.5 \cdot 10^{-3}$ M) of zirconium and reagent, in a volume of 12 ml, after proper adjustment of p_H, etc. and dilution to 25 ml were, respectively,

measured at 590 nm. Fig. 6 gives a graphical representation of the absorptions against the reagent blank. From the curves it appears that both beryllium and zirconium combine with the reagent in the ratio of 1:1.

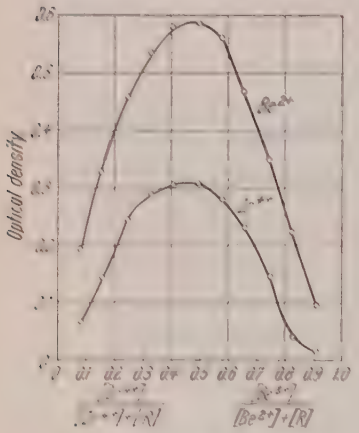


Fig. 6. Job's method of continuous variation. Be^{2+} + Reagent = $2.5 \cdot 10^{-4}$ M at 590 nm; Zr^{4+} + Reagent = $0.5 \cdot 10^{-3}$ M at 590 nm

Molar Extinction Coefficient, Degree of Dissociation and Instability Constants

The molar extinction coefficients for the beryllium and zirconium complexes, as calculated from Beer's law, are respectively, 13480 and 3363.

The degrees of dissociation, α, have been calculated from the relationship[3], $\alpha = E_m - E_s/E_m$, where E_m and E_s have their usual significance, and found to be 0.2727 for beryllium and 0.234 for zirconium. From the values of α, the instability constants, as worked from the equation[3],

$$K = \alpha C(n\alpha C)^n / C(1-\alpha)$$

are $2.836 \cdot 10^{-6}$ and $6.026 \cdot 10^{-6}$ for beryllium and zirconium complexes, respectively.

Summary

Disodium salt of o-carboxyphenylazo chromotropic acid (chromotrope 2C) has been used for the colorimetric determination of microamounts of beryllium and zirconium. The red-violet complexes show maximum absorption at 580 nm and the colour systems obey Beer's law from 0.025 to 0.375 ppm of beryllium and 2 to 12 ppm of zirconium. The optimum concentration ranges are from 0.125 to 0.375 ppm for beryllium and from 4 to 12 ppm for zirconium, where the percent relative errors per $1^0{}_0$ absolute photometric error are, respectively, 3.014 and 3.22. The sensitivity of the reactions per cm^2 are 0.00067 μg Be and 0.027 μg Zr. The complexes, with the metal to reagent ratio of 1:1, have instability constants as $2.836 \cdot 10^{-6}$ for beryllium and $6.026 \cdot 10^{-6}$ for zirconium.

References

[1] Job, P.: C.R. Acad. Sci. **180**, 928 (1925); Ann. Chimie **9**, 113 (1928). — [2] Majumdar, A. K., and C. P. Savariar: Anal. chim. Acta (Amsterdam) **21**, 47 (1959); cf. Z. analyt. Chem. **174**, 153 (1960). — [3] Majumdar, A. K., and C. P. Savariar: Z. analyt. Chem. **174**, 197, 269 (1960). — [4] Ringbom, A.: Z. analyt. Chem. **115**, 332 (1938/39). — [5] Sandell, E. B.: Colorimetric Determination of Traces of Metals, Intersci. Publ. Inc., New York 1950, p. 50. — [6] Vosburgh, W. C., and G. R. Cooper: J. Amer. chem. Soc. **63**, 437 (1941).

Prof. Dr. A. K. Majumdar, Department of Inorganic and Analytical Chemistry, Jadavpur University, Calcutta-32, Indien

Aus dem Analytischen Institut der Universität Wien

Zur Kenntnis der Oxydationsvorgänge bei der Elementaranalyse

IV. Mitteilung*

Über den Einfluß der Schichtlänge und der Strömungsgeschwindigkeit bei der Verbrennungsanalyse

Von

Gerald Kainz und Heinz Horwatitsch

Mit 4 Textabbildungen

(Eingegangen am 14. April 1960)

Wenn man die Arbeiten über die C-H- und N-Analyse durchsieht, so kann man feststellen, daß in bezug auf die Länge der Oxydationsschicht und die Strömungsgeschwindigkeit des Spülgases recht unterschiedliche Angaben gemacht werden. So hat man Schichtlängen zwischen 3 und 20 cm empfohlen; die Werte für die Strömungsgeschwindigkeit schwanken zwischen 0,5 ml (N-Bestimmung nach Pregl), 4 ml (C-H-Bestimmung nach Pregl) und 30 ml (C-H-Bestimmung nach Körbl[3]).

Diese unterschiedlichen Angaben veranlaßten uns, zu untersuchen, welcher Zusammenhang zwischen der Länge der Oxydationsschicht und ihrer Oxydationsleistung besteht. Weiterhin wollten wir klären, wie sich die Oxydationsleistung der Rohrfüllung ändert, wenn man die Geschwindigkeit des Spülgases variiert. Diese Zusammenhänge sind bisher im Rahmen der Elementaranalyse noch nicht quantitativ erfaßt worden.

A. Einfluß der Schichtlänge

1. Grobes Kupferoxyd als Rohrfüllung

Wir nahmen eine 2,5 cm lange Schicht von grobem Kupferoxyd und ermittelten ihre Oxydationsleistung bei 700° C, indem wir Methan hindurchleiteten und den unverbrannten Anteil bestimmten. Als Spülgas verwendeten wir Kohlendioxyd (4 ml/min), um ausschließlich die Reaktion zwischen der Oxydschicht und Methan zu erfassen. Sodann verlängerten wir die Oxydationsschicht jeweils um 2,5 cm und bestimmten erneut ihre Wirksamkeit.

Das Ergebnis ist in Abb. 1 [Verbrennungstemperatur (V.T.) = 700° C] aufgezeichnet. Man sieht, daß im 1. Segment 32% der vorgelegten Methanmenge oxydiert werden; 68% verlassen das Segment und gelangen in das 2. Segment. Dort werden wiederum 32% der eintretenden Methanmenge

* III. Mitteilung: 176, 17 (1960).

oxydiert ($68 \cdot 32\% = 22\%$ der Anfangsmenge), während 68% der eintretenden Gasmenge ($68 \cdot 68\% = 46\%$ der Anfangsmenge) unverbrannt in das 3. Segment gehen. Dieser Vorgang wiederholt sich in allen weiteren Segmenten.

Die Verbrennung von Methan in der Rohrfüllung erfolgt also in gleicher Weise wie z. B. die Absorption von Licht in einer Farblösung. Wir können daher wie beim Lambertschen Gesetz den Ansatz machen

$$-\frac{dc}{dl} = k_1 \cdot c. \tag{1}$$

Die Abnahme der Methankonzentration mit der Schichtlänge ($-dc/dl$) ist der jeweils vorhandenen Methankonzentration (c) proportional. Integriert man diese Gleichung, so erhält man

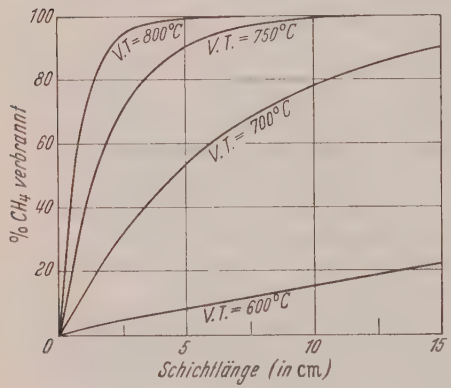


Abb. 1
Einfluß der Schichtlänge auf die Verbrennung von Methan

$$c_E = c_A \cdot e^{-k_1 \cdot l}. \tag{2}$$

Hierbei bedeutet c_E die Methankonzentration (in Prozent), die das Verbrennungsrohr unzersetzt verläßt (Endkonzentration), c_A die Anfangskonzentration (100%); k_1 ist ein Proportionalitätsfaktor, l ist die Schichtlänge. Für den praktischen Gebrauch wird man Gl. (2) logarithmieren

$$\log \frac{c_A}{c_E} = \frac{2}{2{,}303} \cdot k_1 \cdot l \quad \text{bzw.} \quad \log \frac{c_A}{c_E} = k_2 \cdot l. \tag{3, 4}$$

Da $\log c_A$ gleich 2,000 ist, so gilt für die Endkonzentration

$$\log c_E = 2 - k_2 \cdot l. \tag{5}$$

Gl. (5) ermöglicht nun, die Konzentration von Methan, die am Ende der Rohrfüllung austritt, für jede beliebige Schichtlänge zu berechnen.

Man bestimmt zunächst experimentell das Verhältnis c_A/c_E für eine bestimmte Verbrennungstemperatur, bestimmte Schichtlänge und bestimmte Strömungsgeschwindigkeit und berechnet daraus k_2. Nunmehr kann man aus Gl. (5) die Endkonzentration von Methan für jede beliebige Schichtlänge ermitteln.

Auf Grund dieser Zusammenhänge kann man auch die Schichtlänge berechnen, die für eine quantitative Oxydation gerade noch ausreicht.

Diese soll als *Mindest-Schichtlänge* ($l_{\min}$) bezeichnet werden

$$l_{\min} = \frac{2 - \log c_E}{k_2} \quad . \tag{6}$$

Demnach hängt die Mindest-Schichtlänge sehr von der Methankonzentration ab, die im Restgas toleriert wird (c_E). Beträgt c_E z. B. 0,2% (Oxydationsleistung 99,8%), so ist im vorliegenden Fall (grobes Kupferoxyd, 4 ml Kohlendioxd/min) bei 700° C eine Schichtlänge von 40,5 cm erforderlich. Wünscht man hingegen eine Oxydationsleistung von 99,9%, dann berechnen sich 45 cm; will man Methan bis auf 0,01% entfernen, so sind 60 cm notwendig und bei 0,001% Restgas 75 cm Oxydationsschicht. Man hat es also in der Hand, die Oxydationsleistung einer Rohrfüllung durch Variation der Schichtlänge zu regeln.

Als nächstes untersuchten wir, wie sich die Änderung der Schichtlänge auswirkt, wenn man von 700° C zu anderen Verbrennungstemperaturen übergeht. Hierzu wiederholten wir die obige Versuchsreihe bei 600, 750 und 800° C (vgl. Abb. 1). Es zeigte sich, daß die obigen Gleichungen auch bei anderen Temperaturen anwendbar sind; lediglich der k_2-Wert ändert sich mit der Temperatur.

So beträgt k_2 für grobes Kupferoxyd bei 600° C: 0,0072, bei 700° C: 0,067, bei 750° C: 0,216 und bei 800° C: 0,489. k_2 ist also stark temperaturabhängig und um so größer, je höher die Verbrennungstemperatur gewählt wird.

2. Verschiedene Oxyde als Rohrfüllung

Zunächst stellten wir fest, daß die Gl. (1) bis (6) allgemein bei allen Kupferoxydpräparaten gelten, die wir in einer vorhergehenden Mitteilung[1] behandelt haben. Unterschiedlich sind nur die k_2-Werte.

Um den Einfluß der Temperatur auszuschalten, berechneten wir die k_2-Werte von mehreren Kupferoxydpräparaten bei *gleicher* Verbrennungstemperatur (450° C). Die experimentellen Daten sind unserer 2. Mitteilung[1] (Abb. 2) entnommen (siehe Tabelle).

Man sieht, daß der k_2-Wert bei gefälltem Kupferoxyd etwa 400mal so groß ist als bei grobem Kupferoxyd. k_2 ist demnach ein Maß für die Wirksamkeit eines Präparats bei gegebener Verbrennungstemperatur.

Tabelle

Präparat	Restgas in Prozent	k_2-Wert
Kupferoxyd, gefällt	1	0.800
Korngröße 60— 70 μ	60	0.089
Korngröße 70— 90 μ	78	0.043
Korngröße 90—150 μ	83	0.036
Korngröße 150—300 μ	88	0.022
Korngröße 300—750 μ	96	0.007
grobes Kupferoxyd	99	0.002

3. Zusammenhang zwischen Schichtlänge und Mindesttemperatur

In analytischer Hinsicht interessiert, wie sich die Mindesttemperatur einer Rohrfüllung (für 100%ige Oxydation) ändert, wenn man die Schichtlänge variiert. Hierzu haben wir Segmente von 2,5 cm oder einem

Vielfachen davon verwendet und die Verbrennungstemperatur solange erhöht, bis Methan quantitativ oxydiert wurde. Abb. 2 zeigt die gefundenen Werte bei verschiedenen Oxydpräparaten.

Man sieht, daß bei allen Oxydpräparaten die erforderliche Mindesttemperatur bei Verkürzung der Oxydationsschicht ansteigt. So sind bei grobem Kupferoxyd bei einer Schichtlänge von 15 cm 770° C erforderlich, bei 5 cm 845° C und bei 1 cm sogar 920° C. Da die Erhöhung der Verbrennungstemperatur auch eine gewisse Desaktivierung des Präparats

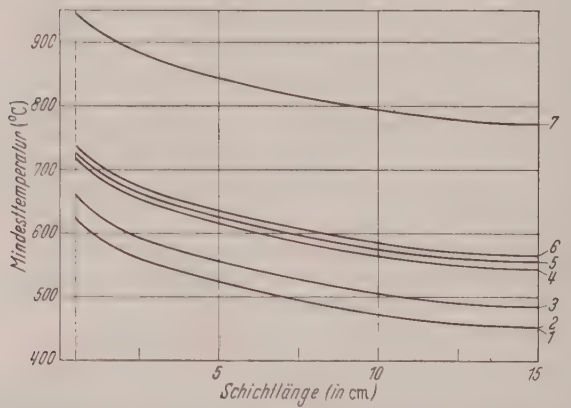


Abb. 2. Änderung der Mindesttemperatur verschiedener Oxydpräparate bei Variation der Schichtlänge. *1* Gefälltes CuO; *2* Zersetzungsprodukt von $AgMnO_4$; *3* gefälltes Co_2O_3; *4* grobes CuO, imprägniert mit Co_2O_3; *5* grobes CuO, imprägniert mit Ag; *6* grobes CuO, überzogen mit gefälltem CuO; *7* grobes CuO

zur Folge hat (vgl. III. Mitteilung[2]), so sind mit einer übermäßigen Verkürzung der Oxydationsschicht nur nachteilige Folgen verbunden.

Abb. 2 gibt auch Aufschluß, welche Präparate für eine bestimmte Verbrennungstemperatur in Frage kommen. Bei 600° C z. B. können folgende Präparate verwendet werden: gefälltes Kupferoxyd, Zersetzungsprodukt von Silberpermanganat, gefälltes Kobaltoxyd, Kupferoxyd + Kobaltoxyd, Kupferoxyd + Silber, grobes Kupferoxyd + gefälltes Kupferoxyd.

Weiterhin kann man aus Abb. 2 entnehmen, welche Schichtlänge von dem betreffenden Präparat notwendig ist, damit eine quantitative Oxydation erzielt wird (Mindestschichtlänge). Diese beträgt (für 600° C) bei gefälltem CuO und dem Zersetzungsprodukt von $AgMnO_4$: 1 cm, bei gefälltem Co_2O_3: 2 cm, bei $CuO + Co_2O_3$: 6,3 cm, bei CuO + Ag: 7,2 cm und bei grobem CuO + gefälltem CuO: 8,3 cm. Verwendet man eine längere Schicht, so dient die Schichtlänge darüber als *Sicherheitszone* für eine eventuelle Verschlechterung des Präparats.

B. Einfluß der Strömungsgeschwindigkeit

1. Ableitung der quantitativen Zusammenhänge

Um den Einfluß der Strömungsgeschwindigkeit auf die Oxydationsleistung einer Rohrfüllung kennenzulernen, verwendeten wir eine 15 cm lange Schicht von grobem Kupferoxyd und bestimmten, wieviel Methan bei verschiedenen Strömungsgeschwindigkeiten verbrennt. Die Versuche wurden bei 600, 650, 700 und 750° C durchgeführt. Abb. 3a zeigt, daß die Oxydationsleistung ganz empfindlich von der Strömungsgeschwindigkeit abhängt und zwar um so mehr, je niedriger die Verbrennungstemperatur gewählt wird.

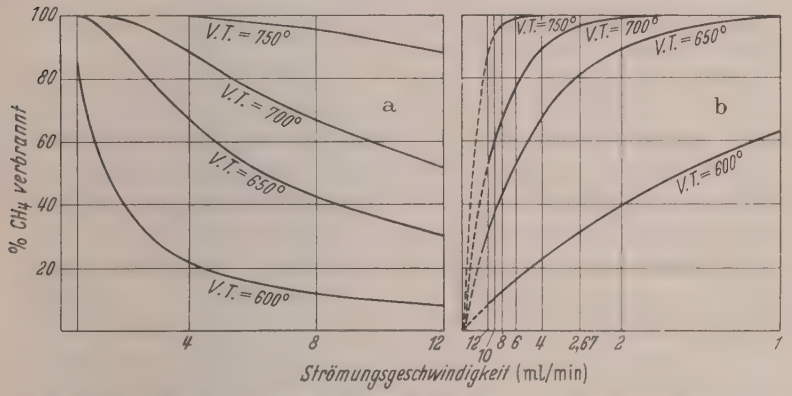


Abb. 3a u. b. Einfluß der Strömungsgeschwindigkeit auf die Verbrennung von Methan. a Strömungsgeschwindigkeit in linearem Maßstab; b Strömungsgeschwindigkeit als Funktion der Kontaktzeit

Die rechnerische Auswertung von Abb. 3a war erst möglich, als wir statt der Strömungsgeschwindigkeit die Zeit einführten, die Methan zum Passieren der Verbrennungszone benötigt (Kontaktzeit t). Diese ist

$$t = \frac{V_{\text{frei}}}{v} . \tag{7}$$

Hierbei bedeutet: V_{frei} das freie Volumen der Rohrfüllung und v die Strömungsgeschwindigkeit (ml/min). Trägt man nun den Prozentsatz an verbranntem Methan gegen die Kontaktzeit auf, so erhält man Abb. 3b.

Es soll zunächst die Kurve bei 650° C näher betrachtet werden. Bei einer Strömungsgeschwindigkeit von 8 ml/min verbrennen in der verwendeten 15 cm langen Schicht 42% Methan; 58% gehen unverbrannt hinaus. Verdoppelt man die Kontaktzeit (Strömungsgeschwindigkeit 4 ml/min), so wird dieselbe Oxydationsleistung wie vorhin schon am Ende der 1. Hälfte der Schicht erreicht. Die restliche Gasmenge (58%) wird

in der 2. Hälfte der Schicht wieder zu 42% oxydiert (= 24% der Anfangsmenge), so daß in der doppelten Kontaktzeit insgesamt 66% Methan verbrennen. Bei der dreifachen Kontaktzeit (Strömungsgeschwindigkeit = $^8/_3$ ml/min = 2,67 ml/min) können wir die Rohrfüllung in 3 Zonen unterteilt denken. Im 1. Drittel verbrennen 42% Methan (Restgas 58%), im 2. Drittel verbrennen wieder 42% des Restgases (= 24%; Restgas 34%), im 3. Drittel wird das verbliebene Restgas wieder zu 42% oxydiert (= 14%). 20% der Anfangsmenge verlassen dann die Rohrfüllung.

Die Konzentrationsabnahme von Methan folgt also dem Differentialansatz

$$-\frac{dc}{dt} = k_3 \cdot c \,. \tag{8}$$

Durch Integration erhält man

$$c_E = c_A \cdot e^{-k_3 \cdot t} \,. \tag{9}$$

Zur praktischen Auswertung dieser Gleichung muß man die Kontaktzeit kennen. Diese ist nach Gl. (7) aus der Strömungsgeschwindigkeit und dem freien Volumen berechenbar. Letzteres ist aber bei gleicher Packungsdichte proportional der Schichtlänge l

$$V_{\text{frei}} = k_4 \cdot l \,. \tag{10}$$

Aus den Gl. (7), (9) und (10) erhält man

$$c_E = c_A \cdot e^{-k_3 \cdot k_4 \cdot \frac{l}{v}} \quad \text{bzw.} \quad \log \frac{c_A}{c_E} = k_3 \cdot k_4 \cdot \frac{1}{2{,}303} \cdot \frac{l}{v} \,. \tag{11}$$

Vereinigt man die Konstanten $k_3 \cdot k_4$ und 1/2,303 zu K, so gilt

$$\log \frac{c_A}{c_E} = K \cdot \frac{l}{v} \,. \tag{12}$$

Die Oxydationsleistung einer Rohrfüllung ist also direkt proportional der Schichtlänge und umgekehrt proportional der Strömungsgeschwindigkeit.

2. Anwendung von Gleichung 12

Aus Gl. (12) läßt sich die Oxydationsleistung der Rohrfüllung für eine beliebige Schichtlänge und Strömungsgeschwindigkeit berechnen, wenn man den K-Wert der Oxydationsschicht kennt. Der K-Wert ist aus der experimentell ermittelten Verbrennungskurve des Präparats zugänglich.

Hierzu liest man aus der Verbrennungskurve des betreffenden Präparats (vgl. Mitt. II, Abb. 2) bei der in Frage kommenden Verbrennungstemperatur die Restkonzentration c_E ab und setzt diese in Gl. (12) ein. Da man weiter die Werte von l und v kennt, mit denen die Verbrennungskurve aufgenommen worden ist, kann man K für die betreffende Verbrennungstemperatur berechnen. Nach Gl. (12) ist sodann eine Umrechnung auf beliebige Schichtlängen und Strömungsgeschwindigkeiten möglich.

Gl. (12) ermöglicht aber auch, die *obere Grenze für die Strömungsgeschwindigkeit* anzugeben, bei der noch eine quantitative Oxydation erfolgt (maximale Strömungsgeschwindigkeit, v_{max}). Diese ist

$$v_{max} = \frac{K \cdot l}{2 - \log c_E}. \qquad (13)$$

Gl. (13) zeigt, daß v_{max} um so größer ist, je größer der K-Wert der Rohrfüllung ist. Hingegen ist v_{max} um so kleiner, je weniger Methan im austretenden Gasstrom toleriert wird.

3. Zusammenhang zwischen Strömungsgeschwindigkeit und Mindesttemperatur

Um diesen Zusammenhang zu ermitteln, haben wir bei verschiedenen Spülgasgeschwindigkeiten eine gemessene Menge Methan durch die Rohrfüllung geleitet und die Temperatur solange erhöht, bis gerade eine quantitative Oxydation erfolgte. Abb. 4 zeigt nun, daß eine Erhöhung der Spülgasgeschwindigkeit unmittelbar eine Erhöhung der Mindesttemperatur zur Folge hat. Höhere Strömungsgeschwindigkeiten setzen also durch Verkürzung der Kontaktzeit die Oxydationsleistung der Rohrfüllung herab.

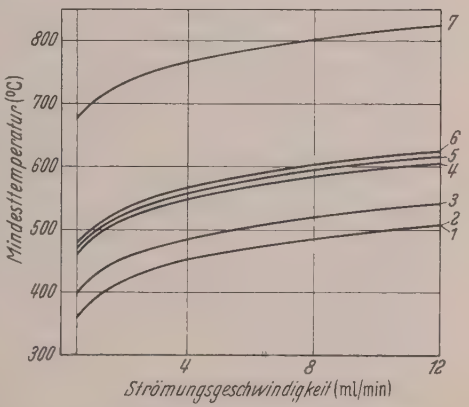


Abb. 4. Änderung der Mindesttemperatur verschiedener Oxydpräparate bei Variation der Strömungsgeschwindigkeit. *1* Gefälltes CuO; *2* Zersetzungsprodukt von $AgMnO_4$; *3* gefälltes Co_3O_4; *4* grobes CuO, imprägniert mit Co_2O_3; *5* grobes CuO, imprägniert mit Ag; *6* grobes CuO, überzogen mit gefälltem CuO; *7* grobes CuO

Aus Abb. 4 ist ersichtlich, welche Spülgasgeschwindigkeit bei gegebenem Präparat und gegebener Verbrennungstemperatur maximal zulässig ist (v_{max}). Um brauchbare Analysenwerte zu erhalten, muß man unterhalb dieses Grenzwertes arbeiten.

C. Bedeutung des K-Wertes

Die bisherigen Ausführungen haben gezeigt, daß die Oxydationsleistung einer Rohrfüllung nicht nur vom Verhältnis l/v abhängt, sondern auch von dem Proportionalitätsfaktor K. Der Faktor K ist nach obigem eine Funktion der Temperatur und der Beschaffenheit der Oxydschicht: mit steigender Temperatur nimmt K zu; bei gegebener Temperatur ist K um so größer, je wirksamer die Oxydationsschicht ist (vgl. Tab. 1,

S. 177). Wir haben nun den Einfluß dieser beiden Faktoren näher betrachtet.

1. Abhängigkeit von der Temperatur der Rohrfüllung

Nach Gl. (12) verläuft die Reaktion Kupferoxyd-Methan nach dem Reaktionsgesetz 1. Ordnung, wenn man lediglich die Kontaktzeit variiert. In K ist daher die Konstante für die Reaktionsgeschwindigkeit (k) enthalten. Da k bekanntlich von der Temperatur abhängt, so gilt dies in gleicher Weise auch für den Proportionalitätsfaktor K.

2. Abhängigkeit von der Beschaffenheit der Rohrfüllung

Bei der Ableitung der Gl. (3) u. (12) wurde stets das gleiche Kupferoxydpräparat (grobes Kupferoxyd) verwendet und nur die Schichtlänge bzw. die Reaktionszeit (Kontaktzeit) variiert. Nimmt man jedoch verschiedene Kupferoxydpräparate und hält die Schichtlänge und Kontaktzeit konstant, so ändert sich der K-Wert mit dem Kupferoxydpräparat. Dies geht besonders deutlich aus der oben angeführten Tab. 1 hervor, wo der K-Wert von gefälltem Kupferoxyd 400mal so groß ist als der von grobem Kupferoxyd. Man muß daraus folgern, daß im K-Wert eine Größe enthalten ist, die von der Beschaffenheit des Präparats abhängt.

Nach Mitteilung II unterscheiden sich die in Tab. 1 genannten Präparate durch das Ausmaß ihrer Kupfer(II)-oxydoberfläche. Gefälltes Kupferoxyd hat als sehr feinkörniges Präparat eine sehr große Oberfläche. Die Kupferoxydmenge, die für Methan zugänglich und daher für die Umsetzung wirksam ist, ist relativ groß. Bei kleiner Oberfläche ist diese CuO-Menge nur gering. Dies bedeutet, daß im K-Wert die *wirksame Kupferoxydkonzentration von der Oberfläche des Präparats* enthalten ist.

$$K = \text{prop} \cdot c_{CuO} \cdot k \,. \tag{14}$$

Hierbei bedeutet k die Konstante für die Reaktionsgeschwindigkeit und c_{CuO} die wirksame Oxydkonzentration an der Oberfläche. Der K-Wert ist daher um so größer, je größer die wirksame Oberfläche ist.

Neben der Oberfläche des Präparats scheint uns noch ein weiterer Faktor entscheidend, nämlich der *Partialdruck des Oxyds*. Dies erkennt man besonders deutlich, wenn man grobes Kupferoxyd mit Ag, Co_2O_3 oder Cr_2O_3 imprägniert. Diese Präparate weisen an sich annähernd dieselbe Oberfläche auf, besitzen jedoch, wie wir bereits früher[1] mitgeteilt haben, einen größeren Sauerstoff-Partialdruck als grobes Kupferoxyd. Sie wirken daher auch stärker oxydierend. Dementsprechend ist ihr K-Wert wesentlich größer als der von grobem Kupferoxyd unter denselben Bedingungen.

Daneben dürfte in K auch ein Faktor für die Oberflächenstruktur eingehen; denn es ist wahrscheinlich, daß eine Oberfläche mit vielen Poren und Kanälen

Methan mehr zurückhält als eine relativ glatte Oberfläche. Hierdurch wird die Verweilzeit von Methan vergrößert und das Präparat erscheint wirksamer (vgl. auch K. E. Zimens[4]). Eine genaue Angabe über den Einfluß der Oberflächenstruktur wird jedoch erst möglich sein, wenn man die Oberfläche der einzelnen Oxydpräparate z. B. durch Adsorptionsmessungen ermittelt und diese Werte mit den K-Werten (bei gleicher Reaktionstemperatur) vergleicht.

3. Die Oxydationsleistung, eine Funktion der Temperatur, der Oxydkonzentration, der Kontaktzeit und des Sauerstoffpartialdrucks

Vereinigt man Gl. (14) mit Gl. (12) und setzt für l/v die Kontaktzeit t, so erhält man

$$\log \frac{(c_{CH_4})_A}{(c_{CH_4})_E} = \frac{1}{2{,}303} \cdot \text{prop. } c_{CuO} \cdot k \cdot t \,. \qquad (15)$$

Man sieht, daß die Oxydationsleistung einer Rohrfüllung von 4 Faktoren abhängt: vom Sauerstoff-Partialdruck des Oxyds (enthalten im Proportionalitätsfaktor), von der wirksamen Kupferoxyd-Konzentration (an der Oberfläche des Präparats), vom Faktor für die Reaktionsgeschwindigkeit (Temperatur) und von der Kontaktzeit. Hält man die Reaktionsgeschwindigkeit sowie die Kontaktzeit bei demselben Oxydpräparat konstant (gleiche Verbrennungstemperatur und Strömungsgeschwindigkeit), so ist die Oxydationsleistung einer Rohrfüllung eine Funktion der Kupferoxydkonzentration. Diese ist bei ein und demselben Präparat um so größer, je länger die Oxydationsschicht ist. Die obenerwähnte Gl. (3) ist daher eine vereinfachte Form von Gl. (15.) Bei *verschiedenen* Präparaten ist die Oxydkonzentration zusätzlich noch eine Funktion der Korngröße.

Hält man die Reaktionsgeschwindigkeit und die Oxydkonzentration konstant (Verbrennungstemperatur, Schichtlänge und Präparat gleich), so hängt die Oxydationsleistung nur von der Kontaktzeit (Strömungsgeschwindigkeit) ab. Die obige Gl. (9) ist daher ebenfalls eine vereinfachte Form von Gl. (15.)

Gl. (15) zeigt aber auch, welche Wege für eine quantitative Oxydation zur Verfügung stehen. Für eine Oxydationsleistung von 99,8% ist nämlich $\log c_A/c_E$ gleich 2,7. Dieser Wert muß durch das Produkt aus k, t, c_{CuO} und einem Faktor für den Sauerstoffpartialdruck erreicht werden. Man kann nun 1. den Faktor für die Reaktionsgeschwindigkeit groß machen im Vergleich zu den übrigen Variablen, indem man die Verbrennungstemperatur stark erhöht. Dieser Weg wurde bereits vielfach beschritten. Man kann 2. auch die Kontaktzeit t groß machen, indem man die Strömungsgeschwindigkeit stark reduziert. Ein Beispiel hierfür hat Pregl bei seiner N-Bestimmung gegeben. 3. kann man die Oxydkonzentration an der Oberfläche des Präparats stark erhöhen, indem man feinkörnige Präparate heranzieht (ein Beispiel hierfür haben wir in

unserer II. Mitteilung[1] gegeben). 4. kann man den Sauerstoffpartialdruck des Oxyds durch Fremdzusätze erhöhen. Auch hierfür haben wir in unserer II. Mitteilung Beispiele geliefert.

Experimenteller Teil

Zur Bestimmung der Oxydationsleistung unter verschiedenen Bedingungen wird die übliche N-Apparatur benützt. Als Testgas wird Methan verwendet, das in einer Gasbürette abgemessen wird (~ 1,5 ml). Als Spülgas dient Kohlendioxyd.

Versuche zu Abb. 1. Das Verbrennungsrohr wird mit einer 2,5 cm langen Schicht von grobem Kupferoxyd beschickt und auf 700° C erhitzt. Man verbrennt eine gemessene Menge Methan (Spülgasgeschwindigkeit 4 ml/min) und liest die Menge des unverbrannten Anteils im Azotometer ab. Dann verlängert man die Oxydationsschicht jeweils um 2,5 cm und bestimmt, wieviel Methan hierbei verbrennt. Dieselben Versuche werden bei 600°, 750° und 800° C wiederholt.

Versuche zu Abb. 2. Man stellt Oxydationsschichten von 0,5 bzw. 1, 2,5, 5, 10 und 15 cm Länge her und erhöht die Temperatur der Rohrfüllung solange, bis beim Durchleiten einer gemessenen Menge Methan im Azotometer Mikroblasen auftreten (Mindesttemperatur für die betreffende Schichtlänge). Als Oxyde werden die in Abb. 2 angeführten Oxyde benützt.

Versuche zu Abb. 3. Eine Schicht von 15 cm grobem Kupferoxyd wird auf 650° C erhitzt. Dann reguliert man die Geschwindigkeit des Spülgases auf 0,5 bzw. 2, 4, 6, 8, 10 und 12 ml/min und gibt eine gemessene Menge Methan hinzu. Die unverbrannte Menge wird im Azotometer abgelesen. Diese Versuchsreihe wird bei 600°, 700° und 750° C wiederholt.

Versuche zu Abb. 4. Das Verbrennungsrohr wird mit einer 15 cm langen Schicht der angeführten Oxydpräparate beschickt. Dann stellt man die Geschwindigkeit des Spülgases auf 0,5 bzw. 1, 2, 4, 8 und 12 ml ein und erhöht die Temperatur solange, bis beim Durchleiten einer gemessenen Menge Methan im Azotometer Mikroblasen auftreten.

Zusammenfassung

Es wird der Einfluß der Schichtlänge und der Strömungsgeschwindigkeit auf die Oxydationsleistung einer Rohrfüllung untersucht. Bezüglich der Schichtlänge wird gefunden, daß die Abnahme der Methankonzentration längs der Oxydationsschicht einer einfachen Gesetzmäßigkeit folgt. Mit den aufgestellten Gleichungen läßt sich einerseits die Oxydationsleistung bei jeder beliebigen Schichtlänge berechnen; andererseits kann man auch die Mindest-Schichtlänge berechnen, die für eine quantitative Oxydation erforderlich ist. Voraussetzung ist, daß man die Verbrennungscharakteristik des betreffenden Oxyds kennt oder vorher experimentell ermittelt hat. Auch für den Einfluß der Strömungsgeschwindigkeit werden quantitative Gesetzmäßigkeiten angegeben. Als maßgeblich erweist sich die Kontaktzeit, die der Strömungsgeschwindigkeit umgekehrt proportional ist. Es ist also möglich, von der bisher üblichen empirischen Testung der Rohrfüllung abzugehen und die erforderlichen Daten nur aus der Verbrennungscharakteristik des Oxyds zu berechnen.

Die entwickelte Grundgleichung für die Umsetzung Methan-Kupferoxyd zeigt, daß für die Oxydationsleistung einer Rohrfüllung das

Produkt aus der Reaktionsgeschwindigkeit (Temperatur der Oxydschicht), der Kontaktzeit (Strömungsgeschwindigkeit), der wirksamen Oxydkonzentration (Einfluß des Präparats) und dem Partialdruck des Oxyds maßgeblich ist. Bei einer Oxydationsleistung von 99,8% muß dieses Produkt den Wert von 2,7 erreichen.

Literatur

[1] Kainz, G., u. H. Horwatitsch: diese Z. **175**, 272 (1960). — [2] Kainz, G., u. H. Horwatitsch: diese Z. **176**, 17 (1960). — [3] Körbl, J.: Mikrochim. Acta (Wien) **1956**, 1705; vgl. diese Z. **157**, 34 (1957). — [4] Zimens, K. E.: in Handbuch der Katalyse, 4. Band: Heterogene Katalyse I. S. 228. Wien: Springer 1943.

Univ.-Dozent Dr. Gerald Kainz, Analyt. Institut der Universität Wien IX., Währingerstraße 38 (Österreich)

Aus dem Institut für Spektrochemie und angewandte Spektroskopie Dortmund-Aplerbeck, in Zusammenarbeit mit der Westfälischen Wilhelms-Universität zu Münster/Westf.

Photometrische Bestimmung kleiner Kupfergehalte mit 6-Methyl-pyridin-2-aldoxim

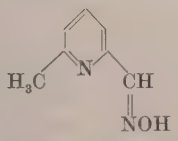
Von

Heinrich Hartkamp

Mit 6 Textabbildungen

(Eingegangen am 20. April 1960)

Die Fähigkeit des Pyridin-2-aldoxims, mit Metallkationen Chelate zu bilden[1,2], wird stark eingeschränkt, sobald der Pyridinring am C_6-Kohlenstoffatom in geeigneter Weise substituiert ist, so wie es beim 6-Methyl-pyridin-2-aldoxim* der Fall ist. Diese Verminderung des Reaktionsvermögens ist qualitativ z. B. daran zu erkennen, daß die Reaktion von Eisen(II)-ionen mit Pyridin-2-aldoxim, die in basischem Medium zu dem



(A)

intensiv roten Tris-(pyridin-2-aldoxim)-eisen(II)-komplex führt[2], mit 6-Methyl-pyridin-2-aldoxim (A) nicht zu beobachten ist: Kobalt(II)-salzlösungen werden beim Zusatz von Pyridin-2-aldoxim intensiv gelb, beim

* Hersteller: Chemische Fabrik Dr. F. Raschig, Ludwigshafen/Rh.

analogen Versuch mit 6-Methyl-pyridin-2-aldoxim entwickelt sich nur eine schwache gelbbraune Färbung. Nickel(II)-ionen verhalten sich ähnlich. Demgegenüber tritt die etwas braunstichige Orangefarbe des Kupfer(I)-chelates mit Pyridin-2-aldoxim mit annähernd gleicher Intensität auch bei der Reaktion von einwertigem Kupfer mit 6-Methyl-pyridin-2-aldoxim auf.

Eine mögliche Deutung des gegenüber gewissen Metallkationen eingeschränkten Reaktionsvermögens von 6-Methyl-pyridin-2-aldoxim ergibt sich aus der Betrachtung der Chelatkonfigurationen. Die koordinativ sechszähligen Ionen des Eisens und des Kobalts bilden mit dem zweizähligen Chelatbildner Pyridin-2-aldoxim oktaedrische Chelate, welche die Metallionen und Liganden im Molverhältnis 1:3 enthalten; das gelbe Nickel(II)-chelat ist als kovalentes 1:2-Chelat mit quadratisch-ebener Ligandenanordnung anzusprechen. Die koordinativen Bindungen in Kupfer(I)-chelaten sind in der Regel tetraedrisch ausgerichtet. Eine solche tetraedrische Anordnung können die beiden 6-Methyl-pyridin-2-aldoximliganden im Kupfer(I)-chelat ohne weiteres erreichen; die entsprechenden, von Eisen-, Kobalt- und Nickelionen angestrebten oktaedrischen bzw. quadratisch-ebenen Strukturen sind aber nicht mehr möglich, weil die Methylgruppen am C_6-Kohlenstoff mit den Oximgruppen bzw. mit den Pyridinringen benachbarter Liganden kollidieren. Das Reaktionsvermögen des 6-Methyl-pyridin-2-aldoxims gegenüber koordinativ sechszähligen Ionen und gegenüber solchen koordinativ vierzähligen Ionen, die zur Ausbildung quadratisch-ebener Chelate tendieren, ist also sterisch behindert. Diese Aussage läßt sich mit Hilfe von Kalottenmodellen nachprüfen. Sie gewinnt an Wahrscheinlichkeit durch folgende Beobachtungen: Zweiwertiges Palladium, dessen Chelate bevorzugt quadratisch-eben gebaut sind, läßt sich aus ammoniakalischen Lösungen seiner Salze mit Pyridin-2-aldoxim auch in Gegenwart anderer Komplexbildner (Weinsäure, Citronensäure) quantitativ und formelrein als gelbes, in langen Nadeln kristallisierendes Bis-(pyridin-2-aldoxim)-palladium(II) ausfällen; mit 6-Methyl-pyridin-2-aldoxim tritt unter gleichen Bedingungen keine Fällung auf. Aus dem grünen Kupfer(II)-chelat mit Pyridin-2-aldoxim erhält man das Kupfer(I)-chelat nur, wenn man die ammoniakalischen oder alkalischen Lösungen in der Hitze mit Hydroxylamin reduziert; beim Schütteln an der Luft kehrt die grüne Farbe des Kupfer(II)-chelates zurück. In Kupfer(II)-salzlösungen, die 6-Methyl-pyridin-2-aldoxim enthalten, wird demgegenüber das Kupfer mit Hydroxylamin schon in der Kälte augenblicklich reduziert. Nach alledem ist die Wirkung sterischer Effekte sehr wahrscheinlich, zumal analoge Beobachtungen vom 1,10-Phenanthrolin und seinen Derivaten bekannt sind, deren Chelate mit Eisen und Kupfer den entsprechenden Pyridin-2-aldoximchelaten sehr ähnlich sind.

Die endgültige Entscheidung über die Ursachen des verminderten Reaktionsvermögens muß speziellen Untersuchungen vorbehalten bleiben. Das Phänomen als solches gestattet jedoch die Anwendung von

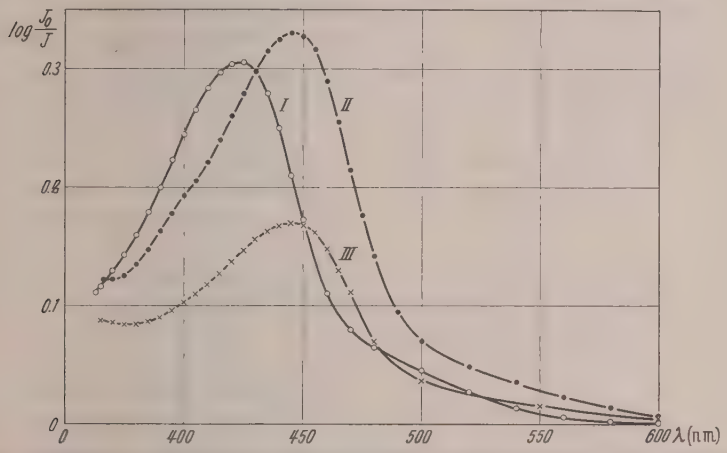


Abb. 1. Lichtabsorption des Kupfer(I)-chelates mit 6-Methyl-pyridin-2-aldoxim in saurer, alkalischer und ammoniakalischer Lösung. Unicam SP 600; d = 1,000 cm; Messung gegen Blindlösung, c_{Cu} = 2,50 µg/ml = 3,93 · 10^{-5} Mol/l. *I* Saure Lösung, p_H 5; *II* alkalische Lösung, $p_H > 12$; *III* ammoniakalische Lösung

6-Methyl-pyridin-2-aldoxim zur weitgehend selektiven, photometrischen Bestimmung kleiner Kupfergehalte. Das der Bestimmung zugrundeliegende Kupfer(I)-chelat, dessen Absorptionsspektrum die Kurve I in Abb. 1 zeigt, erweist sich erwartungsgemäß als 1:2-Chelat. Zu diesem Ergebnis führt das Job'sche Verfahren der kontinuierlichen Variation. Die nach diesem Verfahren gewonnenen Meßwerte sind in

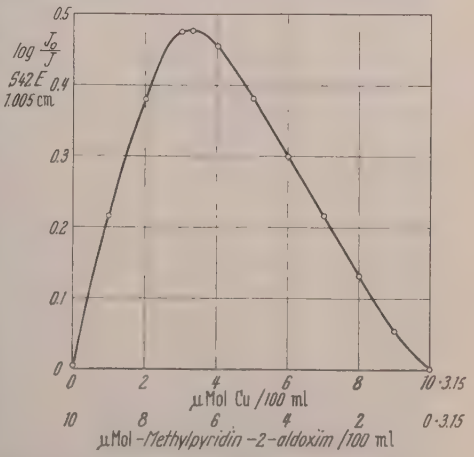


Abb. 2. Ermittlung der Zusammensetzung des Kupfer(I)-chelates mit 6-Methyl-pyridin-2-aldoxim. Jobsches Verfahren der kontinuierlichen Variation. Essigsäure-Acetatpuffer, p_H 5. Reduktionsmittel: Hydroxylammoniumchlorid. Photometer Elko II, Carl Zeiß; Glühlampe, Filter S 42 E; Messung in 1,005 cm-Küvetten gegen Wasser

Abb. 2 dargestellt. Zur vollständigen Überführung des vorgelegten Kupfers in das 6-Methyl-pyridin-2-aldoximchelat ist im optimalen p_H-Bereich zwischen 4,5 und 6,5 nur ein geringer Reagensüberschuß

notwendig (Abb. 3). Größere Reagensmengen verändern die Extinktionsmeßwerte nicht.

In sauren Lösungen mit p_H-Werten unter 2 bildet sich das Chelat nicht in merklichem Umfange. Mit steigendem p_H-Wert verschiebt sich das Gleichgewicht zur Seite der Chelatbildung; bei p_H-Werten zwischen 4,5 und 6,5 ist die Umsetzung vollständig. Die Abb. 4 zeigt die Abhängigkeit der bei verschiedenen Filterwellenlängen — S 42 E und S 45 E — gemessenen Extinktionen vom p_H-Wert der Meßlösungen.

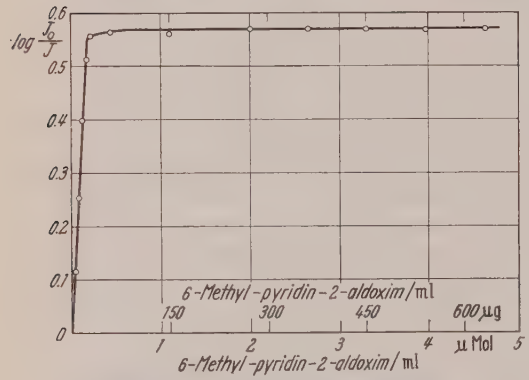


Abb. 3. Einfluß der Reagenskonzentration auf die Extinktionsmeßwerte beim Kupfer(I)-chelat mit 6-Methyl-pyridin-2-aldoxim. c_{Cu} = 5,0 µg/ml = 0,079 µMol/ml; p_H 5; Photometer Elko II; Glühlampe, Filter S 42 E; d = 1,005 cm; Messung gegen Blindlösung

Der ungewöhnliche und für die beiden Wellenlängen wenig übereinstimmend erscheinende Verlauf der p_H-Funktion ist auf die Existenz dreier Gleichgewichtsformen des Kupfer(I)-chelates zurückzuführen, die sich in verschiedenen p_H-Bereichen bevorzugt bilden. Alle drei Formen sind 1:2-Chelate des einwertigen Kupfers mit 6-Methylpyridin-2-aldoxim. In sauren Lösungen ($p_H \approx 5$) liegt nach Ausweis der Jobschen Variationsreihe (Abb. 1) ein 1:2-Chelat vor, zu dem gleichen Resultat führen Messungen an ammoniakalischen Lösungen; aus natronalkalischen Lösungen schließlich läßt sich eine Natrium enthaltende, gut kristallisierte, tief schwarz-braune Verbindung isolieren, deren analytisch bestimmter Kupfergehalt (18,5 %; 18,7 %) mit dem für die Verbindung Natrium-[bis-(6-methyl-pyridin-2-aldoxim)-cuprat(I)] — $Na[(CH_3 \cdot C_5H_3N \cdot CH{:}NO)_2Cu]$ — theoretisch zu erwartenden Wert (17,8 % Cu) recht gut übereinstimmt. Die drei Formen des Chelates scheinen sich aber durch den Dissoziationszustand ihrer Oximwasserstoffe zu unterscheiden,

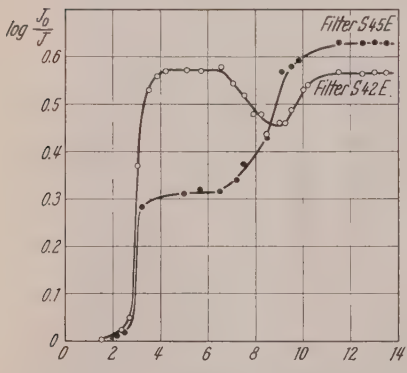
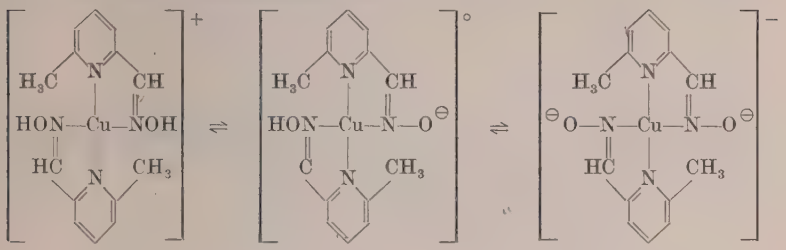


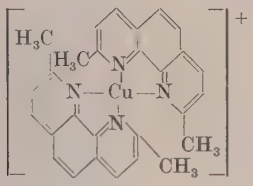
Abb. 4. p_H-Abhängigkeit der Extinktionsmeßwerte beim Kupfer(I)-chelat mit 6-Methyl-pyridin-2-aldoxim. Photometer Elko II; Glühlampe; d = 1,005 cm; Messung gegen Wasser; c_{Cu} = 5 µg/ml

etwa dem folgenden Reaktionsschema entsprechend:



I II III

Das nach diesem Schema in sauren Lösungen vorliegende Komplexkation I gleicht im Aufbau der Koordinationssphäre vollkommen dem



Bis-(2,9-dimethyl-1,10-phenanthrolin)-kupfer(I)-kation, dem Kupfer(I) chelat mit Neocuproin. Gleich diesem läßt sich das Bis-(6-methyl-pyridin-2-aldoxim)-kupfer(I)-chelat aus schwach sauren Lösungen mit n-Butanol oder anderen höheren Alkoholen rasch und praktisch quantitativ extrahieren. Bei höheren p_H-Werten (6,5—8,5) geht das Komplexkation I in den Komplexnichtelektrolyten II über; diese Umwandlung wird in den bei verschiedenen p_H-Werten gemessenen Absorptionsspektren durch einen isosbestischen Punkt bei $\lambda \approx 440$ nm angezeigt (Abb. 5)*. Das Absorptionsmaximum wandert dabei nach längeren Wellen; die zugehörige Molarextinktion sinkt. Bei weiter ansteigendem p_H-Wert tritt im alkalischen Bereich in zunehmendem Maße das Komplexanion III auf; in Lösungen mit p_H-Werten über 12 liegt das Absorptionsmaximum unverändert bei $\lambda = 445$ nm. Die zugehörige Molarextinktion $\lambda_{445} = 8380$ [l/Mol·cm] ist merklich höher als der an sauren Lösungen (p_H 5) im Absorptionsmaximum bei 422 nm gemessene Wert $\lambda_{422} = 7750$ [l/Mol·cm].

Die Verschiebung des Absorptionsmaximums um etwa 20 nm nach längeren Wellen beim Übergang von sauren zu alkalischen Lösungen entspricht in ihrer Größenordnung der Verschiebung, die durch Salzbildung

* Die kurzwelligen Absorptionsflanken in den bei höheren p_H-Werten gemessenen Spektren werden durch das als Oximat vorliegende Reagens hervorgerufen.

in den Spektren von Phenolen und Oximen hervorgerufen wird. Das in alkalischen Lösungen vorliegende Chelat läßt sich mit höheren Alkoholen

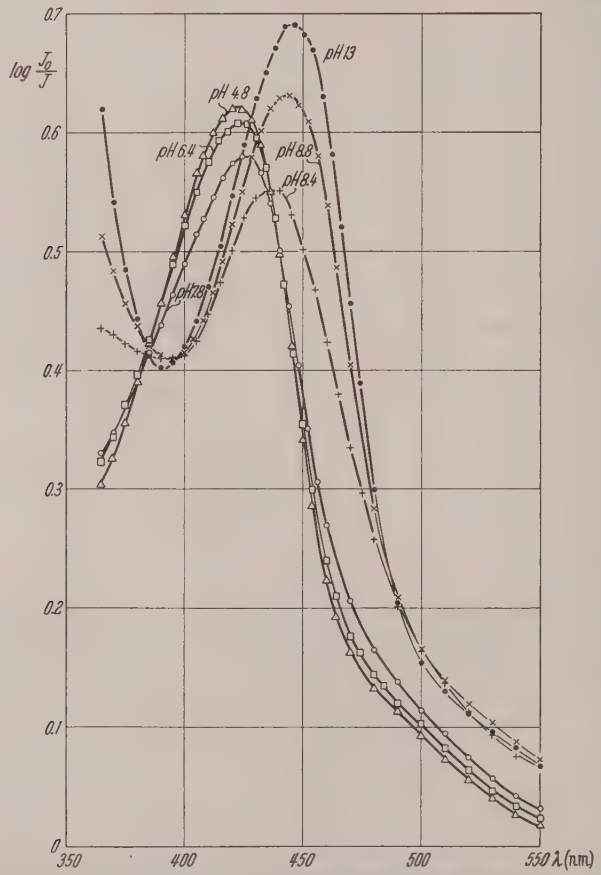


Abb. 5. Lichtabsorption des Kupfer(I)-chelates mit 6-Methyl-pyridin-2-aldoxim bei verschiedenen p_H-Werten. Unicam SP 600; d = 1,000 cm; Messung gegen Wasser; c_{Cu} = 5,0 µg/ml

nur unvollständig extrahieren. In den Extrakten ist die maximale Absorption geringfügig nach längeren Wellen verschoben; den gleichen bathochromen Effekt zeigen die Extrakte aus sauren Lösungen.

Analytisch verwertbar sind die in saurer und die in stark alkalischer Lösung vorliegenden Formen des Chelates (I und III). Die an solchen Lösungen gemessenen Extinktionen sind sehr gut reproduzierbar. Die nachstehende Tab. 1 enthält die aus den Durchlässigkeitsmeßwerten errechneten Extinktionswerte, da sich die Genauigkeit des Meßverfahrens

bei unmittelbarer Ablesung der Extinktionen nicht voll ausschöpfen läßt. Mit etwas größeren Streuungen sind die an Butanolextrakten aus Lösungen von p_H 5 gemessenen Extinktionen behaftet.

Tabelle 1. *Statistik der Eichkurven*

vorgelegte Kupferkonzentration μg/ml	Anzahl der Messungen N	Mittelwert der Extinktion* x_N	Standardabweichung s_N	Varianz (%) $V = \frac{s_N}{x_N} \cdot 100$
Lösungen mit p_H 5		Messung mit Elko II, Filter S42E, d = 1,005 cm, gegen Wasser		
0,00	10	0,0066	0,0002	3,03
0,50	10	0,0647	0,0006	0,95
1,00	10	0,1227	0,0004	0,29
3,00	10	0,3446	0,0005	0,14
5,00	10	0,5603	0,0011	0,19
7,00	10	0,7778	0,0011	0,14
10,00	10	1,1022	0,0078	0,71
Butanolextrakte (25 ml) aus Lösungen mit p_H 5		Messung mit Elko II, Filter S42E, d = 0,500 cm, gegen Butanol		
1,25	5	0,0745	0,0027	3,57
5,00	5	0,2819	0,0020	0,72
7,50	5	0,4138	0,0026	0,64
12,50	5	0,6736	0,0029	0,43
Alkalische Lösungen $p_H > 12$		Messung mit Elko II, Filter S45E, d = 1,005 cm, gegen Wasser		
0,00	10	0,0052	0,0015	28,0
1,00	10	0,1385	0,0004	0,28
3,00	10	0,3856	0,0007	0,17
5,00	10	0,6273	0,0021	0,34
7,00	10	0,8639	0,0016	0,19
10,00	10	1,2075	0,0010	0,08
Alkalische Lösungen $p_H > 12$		Messung mit Elko II, Filter S42E, d = 1,005 cm, gegen Wasser		
0,00	10	0,0066	0,0004	6,7
2,00	10	0,2426	0,0004	0,15
4,00	10	0,4591	0,0007	0,15
6,00	10	0,6743	0,0008	0,12
8,00	10	0,8884	0,0011	0,12
10,00	10	1,0961	0,0018	0,17

* Die Extinktionen wurden aus den Durchlässigkeitsmeßwerten errechnet.

In allen Fällen folgen die Meßwerte dem Beerschen Gesetz (Abb. 6). Die mit dem Photometer Elko II und Filter S 42 E (Zeiss, Oberkochen) an alkalischen Lösungen gemessene Eichkurve stimmt zufällig genau mit

der für saure Lösungen gültigen, mit dem gleichen Filter gemessenen Eichkurve überein, so daß man mit einer Eichgeraden auskommt, sofern man auf den Empfindlichkeitsvorteil bei der Messung alkalischer Lösungen mit dem Filter S 45 E verzichten will.

Die an sauren (p_H 5) und an alkalischen Lösungen gemessenen Extinktionswerte sind weitgehend unempfindlich gegen größere Gehalte der Meßlösungen an Fremdionen. Die nachstehende Tab. 2 gibt Auskunft

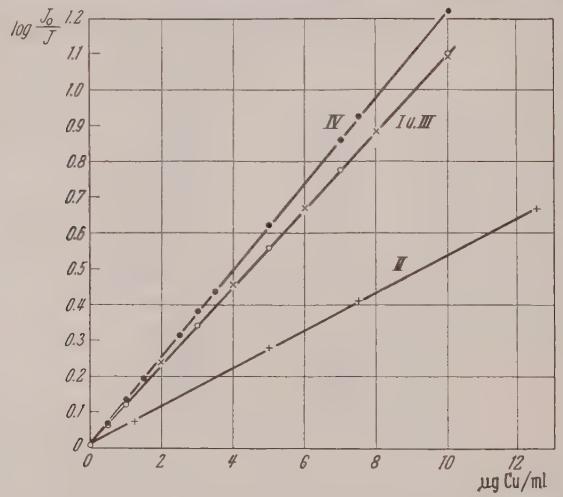


Abb. 6. Eichkurven zur photometrischen Kupferbestimmung mit 6-Methyl-pyridin-2-aldoxim Photometer Elko II, Carl Zeiß; Glühlampe; Messung gegen Wasser. *I* wäßrige Lösungen; p_H 5; Filter S 42 E; d = 1,005 cm; *II* Butanolextrakte; Filter S 42 E; d = 0,500 cm; *III* Alkalische Lösungen; Filter S 42 E; d = 1,005 cm; *IV* Alkalische Lösungen; Filter S 45 E; d = 1,005 cm

über die Störwirkung verschiedener Zusätze. Die angegebenen Werte stammen aus Einzelmessungen.

Mögliche, geringfügige Kupfergehalte der Zusätze wurden nicht bestimmt und daher auch nicht berücksichtigt.

Störungen werden in der Hauptsache durch größere Mengen von Eisen, Kobalt, Nickel, Chrom, Molybdän und Zinn hervorgerufen. Soweit sich bei der Herstellung der Meßlösungen Niederschläge bilden, können diese ohne wesentliche Beeinträchtigung der Analysengenauigkeit abfiltriert werden. Es wurde noch nicht geprüft, ob sich die Selektivität des Bestimmungsverfahrens durch Extraktion des Kupferchelates mit höheren Alkoholen oder durch vorangehende Abtrennung der Störelemente erhöhen läßt. Für die Kupferbestimmung in Legierungen des Aluminiums, des Zinns, des Antimons oder des Zinks erscheint die Messung an alkalischen Lösungen vorteilhaft. Die Meßwerte sind beim Arbeiten in saurer und in alkalischer Lösung mindestens 24 Std konstant.

Tabelle 2. *Der Einfluß von Zusätzen auf die Kupferbestimmung*
Vorgelegte Kupferkonzentration: 5 μg Cu/ml

Zusatz		gefundene Cu-Konzentration (μg/ml)	Abweichung %	Zusatz		gefundene Cu-Konzentration (μg/ml)	Abweichung %
Art	Konzentration (μg/ml)			Art	Konzentration (μg/ml)		
I: Saure Meßlösungen, p_H 5		Messung mit Elko II, Filter S42E, Glühlampe, gegen Wasser bei $d = 1{,}005$ cm					
—		5,00		Bi[b]	10	4,94	— 1,2
Weinsäure	5000	5,00	0	Bi[b]	100	4,90	— 2,0
Citronensäure	5000	5,00	0	Bi[b]	200	4,94	— 1,2
Mg	1000	4,91	— 1,8	V[a]	50	5,00	0
Ca	1000	4,86	— 2,8	V[a]	100	5,00	0
Ca	5000	4,99	— 0,2	V[a]	200	5,00	0
Sr	1000	4,99	— 0,2	V[a]	500	5,13	+ 2,6
Ba	1000	4,91	— 1,8	Cr	8,7	5,06	+ 1,2
Zn	600	5,00	0	Cr[a]	173	6,12	+ 22,4
Zn	1000	4,92	— 1,6	Mo	20	5,07	+ 1,4
Zn	5000	4,95	— 1,0	Mo	50	5,02	+ 0,4
Cd	225	5,03	+ 0,6	Mo	200	5,24	+ 4,8
Cd	1000	4,95	— 1,0	W	200	4,90	— 2,0
Hg[b]	500	4,93	— 1,4	Mn	200	5,00	0
Ag[b]	100	5,00	0	Mn	1000	4,90	— 2,0
Ag[b]	535	4,95	— 1,0	Fe[a]	10	4,99	— 0,2
Al	1000	4,82	— 3,6	Fe[a]	50	5,06	+ 1,2
Ga	1000	4,84	— 3,2	Fe[a]	200	5,21	+ 4,2
Sn[b]	10	5,01	+ 0,2	Co[a]	10	5,09	+ 1,0
Sn[b]	500	2,92	— 41,6	Co[a]	50	5,26	+ 5,2
Pb	200	4,97	— 0,6	Ni[a]	25	5,00	0
Pb	500	4,97	— 0,6	Ni[a]	50	5,03	+ 0,6
Sb[b]	200	5,00	0	Ni[a]	500	5,20	+ 4,0
Sb[b]	500	5,00	0				
II: Alkalische Meßlösungen, p_H 12		Messung mit Elko II, Filter S42E, Glühlampe, gegen Wasser bei $d = 1{,}005$ cm					
Al	2500	5,00	0				
Zn	2500	5,00	0				
As	2000	3,71	— 25,8				
Sn	1900	5,03	+ 0,6				
Sb	3900	5,00	0				

[a] Die Lösungen enthielten jeweils 5 mg Weinsäure/ml.
[b] Die Lösungen wurden vor der Messung filtriert.

Arbeitsvorschrift

I. Reagentien. 1. 1%ige Lösung von 6-Methyl-pyridin-2-aldoxim* in Methanol; 2. 10%ige wäßrige Lösung von Hydroxylammoniumchlorid p.a.; 3. Puffer p_H 5 (2n Essigsäure + 2n Natriumacetatlösung im Verhältnis 1 : 4 mischen); 4. 5n Natronlauge; 5. 10%ige wäßrige Weinsäurelösung.

II. Bestimmung bei p_H 5. Die Probenlösung mit einem Gehalt von 10—1000 μg Cu wird in einem 100 ml-Meßkolben mit 10—20 ml Pufferlösung auf p_H 5 gebracht,

* Zu den vorstehend beschriebenen Untersuchungen wurde das Handelsprodukt ohne weitere Reinigung verwendet.

danach mit 2 ml Hydroxylammoniumchloridlösung und mit 5 ml Reagenslösung versetzt, mit Wasser zur Marke aufgefüllt und nach kräftigem Durchmischen bei 422 nm oder einer geeigneten Filterwellenlänge photometriert. Enthält die Lösung Chrom, Eisen, Kobalt oder Nickel, so gibt man vor der Reduktion 5 ml Weinsäurelösung zu. Niederschläge (Hydrolysenprodukte von Antimon, Wismut, Zinn, metallisches Silber oder Quecksilber) werden nach dem Auffüllen der Lösungen über ein trockenes Filter abfiltriert. Die ersten 10—15 ml des Filtrates werden verworfen, das übrige Filtrat ist zur photometrischen Messung geeignet. In gleicher Weise stellt man mit reinen Kupferlösungen die Eichkurve auf.

III. Bestimmung in alkalischer Lösung. Die stark alkalische Probenlösung ($p_H > 12$) mit einem Kupfergehalt von 10—1000 μg wird im 100 ml-Meßkolben mit 5 ml Reagenslösung, 2 ml Hydroxylammoniumchlorid und 5 ml 5n Natronlauge versetzt, zur Marke verdünnt und bei 445 nm oder einer geeigneten Filterwellenlänge photometriert.

Zusammenfassung

Kleine Kupfergehalte lassen sich mit 6-Methyl-pyridin-2-aldoxim sowohl in schwach sauren als auch in stark alkalischen Lösungen weitgehend selektiv bestimmen. Die Selektivität wird auf eine sterische Behinderung der Reaktion von 6-Methyl-pyridin-2-aldoxim mit anderen Metallionen zurückgeführt. Die Meßwerte sind von Schwankungen der Versuchsbedingungen weitgehend unabhängig. Die Bestimmungen lassen sich rasch durchführen.

Literatur

[1] Hartkamp, H.: Naturwissenschaften **45**, 211 (1958); vgl. diese Z. **166**, 442 (1959). — [2] Hartkamp, H.: diese Z. **170**, 399 (1959).

Dr. H. Hartkamp, Institut für Spektrochemie und angewandte Spektroskopie, Dortmund-Aplerbeck, Marsbruchstraße 186, Bau 1

Bericht über die Fortschritte der analytischen Chemie

I. Allgemeine analytische Methoden, Apparate und Reagentien

Flammenphotometrie. W. H. Foster jr. und D. N. Hume[1] untersuchen die verschiedenen *Einflußgrößen, die auf die Linienemission bei der Flammenphotometrie einwirken können.* Die Verff. geben an, daß die Oberflächenspannung der Probenlösung ohne merklichen Einfluß bleibt. Ebenso ist der während der Analyse abnehmende hydrostatische Druck im Probenlösungsreservoir in seiner Wirkung vernachlässigbar. Zu hohe Salzkonzentrationen (größer als 1 g/l) verringern verschiedentlich die Intensitäten. Variationen der Viscosität durch verschiedene Temperaturen der Probenlösung führen zu Durchflußraten, die umgekehrt proportional der Viscosität sind. Der Einfluß verschiedener Durchflußraten wird dann eingehender für die Elemente Lithium (671 und 610 nm), Natrium (589 nm), Kalium (769 nm), Caesium (852 nm), Calcium (423 nm) und CaOH-Bande (554 nm) und Strontium (461 nm) in der Knallgasflamme untersucht. Die Verff. finden, daß für jede Linie eine optimale Durchflußrate existiert und suchen die Ursache für die wieder abnehmende Intensität bei höheren Durchflußraten in der stärkeren Flammenabkühlung durch die erhöhte Wassermenge. (Siehe auch M. R. Baker und

B. L. Vallee[2].) Die Verff. finden außerdem eine Korrelation zwischen der Steilheit der Intensitätsabnahme nach Überschreiten der optimalen Durchflußrate und der Selbstabsorption der betreffenden Linien.

[1] Analyt. Chemistry **31**, 2028—2032 (1959). Inst. Technol., Cambridge, Mass. (USA). — [2] Analyt. Chemistry **31**, 2036 (1959); vgl. diese Z. **176**, 195 (1960).

F. Rosendahl

W. H. Foster jr. und D. N. Hume[1] berichten über experimentelle Untersuchungen zur Frage der *gegenseitigen Kationenstörung bei flammenphotometrischen Analysen.* Wenn instrumentelle Effekte und Verdampfungsunterschiede ausgeschaltet werden, so können qualitativ die Intensitätsbeeinflussungen an Hand der Ionisierungspotentiale der beteiligten Elemente und der Flammentemperatur vorausgesagt werden. Durch Zugabe eines leicht ionisierbaren Störelementes (z. B. Rubidium, Ionisierungspotential 4,176 eV) wird die Ionisation schwerer ionisierbarer Analysenelemente herabgesetzt und damit deren Atomlinienintensität verstärkt. Diese Intensitätserhöhung wird um so ausgeprägter sein, je niedriger die Ionisierungsenergie des Analysenelementes ist, d. h. je höher bei gegebener Flammentemperatur nach der Saha-Gleichung der Ionenanteil ist. Die Verff. zeigen am Beispiel von *Barium*, *Strontium* und *Calcium in Gegenwart von Rubidium* für zwei verschiedene Flammentemperaturen die Richtigkeit der Ionisierungstheorie. Die Ionenlinien verschwinden fast vollständig, während die Atomlinien verstärkt werden, und zwar in der Reihenfolge Barium, Strontium und Calcium. Bei höherer Temperatur sind die Effekte stärker. Die Verff. zeigen, daß bei Verwendung einer Acetylen/Sauerstoff-Flamme aus diesem Grunde Lithium als Referenzelement für Kalium unbrauchbar ist.

[1] Analyt. Chemistry **31**, 2033—2036 (1959). Inst. Technol., Cambridge, Mass. (USA).

F. Rosendahl

M. R. Baker und B. L. Vallee[1] haben theoretische Überlegungen angestellt, *wie sich die durch einen höheren Durchsatz von Probenlösung einstellende Flammenabkühlung auf die Linienanregung bei der Flammenphotometrie auswirkt.* Für den Fall von wäßrigen Lösungen berechnen sie dazu unter Verwendung thermodynamischer Daten die sich einstellenden Flammentemperaturen sowohl einer Cyan/Sauerstoff-Flamme als auch einer Knallgasflamme als Funktion der Probendurchflußrate (Mol H_2O/Mol O_2). Für ihre Überlegungen setzen die Verff. jeweils thermisches Gleichgewicht und eine homogene Verteilung von Brenngas, Sauerstoff und Probenlösung voraus. Durch Berücksichtigung der so erhaltenen Funktionen bei der Berechnung der Linienintensitäten kommen die Verff. zu dem Ergebnis, daß die Intensität als Funktion der Probendurchflußrate jeweils ein Maximum durchläuft, dessen Lage durch das Anregungspotential der betreffenden Linie und durch den Flammenbrennstoff bestimmt ist. Je niedriger das Anregungspotential, bei desto höheren Durchflußraten liegen die Maxima. Bei Flammen hoher Temperatur liegen die Maxima bei kleineren Durchflußraten als bei Flammen geringerer Temperatur.

[1] Analyt. Chemistry **31**, 2036—2039 (1959). Harvard Med. School, und Peter Bent Brigham Hosp., Boston, Mass. (USA).

F. Rosendahl

K. Fuwa, R. E. Thiers, B. L. Vallee und M. R. Baker[1] geben in dieser Arbeit experimentelle Ergebnisse an, die die theoretischen Überlegungen von M. R. Baker und B. L. Vallee[2] bezüglich der Existenz einer optimalen Probenlösung-Durchflußrate bei der Flammenphotometrie bestätigen. Teils photographisch mit einem mittleren Quarz-Prismenspektrographen und teils photoelektrisch mit einem 1 m-Gitterspektrographen untersuchten die Verff. die Intensitätskurve als

Funktion der Durchflußrate für Linien verschiedener Elemente und Anregungspotentiale (*Ca* 4226,7 Å, *Ca* 3968,5 Å, *Mn* 4030,8 Å, *Sr* 4077,7 Å, *Sr* 4607,3 Å, *Ba* 4554,0 Å, *Mg* 2852,1 Å und *Fe* 3719,9 Å) in einer Cyan-Sauerstoff-Flamme und die beiden Calciumlinien auch in der Knallgasflamme. Es wurden jeweils verschiedene Flammenbereiche ausgewählt, wobei sich ergab, daß die höchste Intensität dicht über dem inneren Flammenkegel emittiert wird. Bei den vorliegenden Verhältnissen lagen bei der Cyan/Sauerstoff-Flamme die mittleren optimalen Durchflußraten extrem niedrig bei ungefähr 60 μl/min. Das bedeutet, daß diese Flamme, bezogen auf das Absolutgewicht des zu analysierenden Kations, eine extrem hohe Empfindlichkeit besitzt. Die Maxima bei der Knallgasflamme sind flacher und liegen bei Durchflußraten von 1—2 ml/min.

[1] Analyt. Chemistry **31**, 2039—2043 (1959). Harvard Med. School und Peter Bent Brigham Hosp., Boston, Mass. (USA). — [2] Analyt. Chemistry **31**, 2036 (1959); vgl. diese Z. **176**, 195 (1960). F. Rosendahl

Den Selbstbau eines registrierenden Spektropolarimeters für den Bereich von 240—600 nm beschreiben M. Grosjean, A. Lacam und M. Legrand[1]. Als Lichtquelle dient eine Hochdruck-Xenon-Bogenlampe (Osram XBO 162), die mit 8 Amp. betrieben wird. Die Strahlung wird auf den Eintrittspalt eines Quarzmonochromators (Jobin und Yvon) gesammelt. Als Austrittsspalt dient eine Lochblende von 2 mm Durchmesser. Der Lichtstrahl tritt in den Polarisator ein, durchsetzt die Quarzküvette zur Aufnahme der zu untersuchenden Probelösung und eine Küvette, die mit Wasser gefüllt ist, trifft auf den Analysator und schließlich auf einen Sekundärelektronenvervielfacher (Philips 51 UVP), der mit 1600 V betrieben wird. Die wassergefüllte Küvette steckt in 2 Faradayschen Selbstinduktionsspulen. Die Kompensationsspule wird von Gleichstrom durchflossen, während die Modulationsspule von Wechselstrom (50 Hz) durchflossen wird. Durch das konstante und wechselnde Magnetfeld ist es möglich, auf elektrischem Wege eine kontrollierte Lichtstrahldrehung zu erzeugen. Die Ausgangsspannung am SEV wird durch einen selektiven Vorverstärker (Verstärkungsfaktor 4500, Siebung 40 dB auf 100 Hz, Restspannung für 50 Hz 20 μV verstärkt. Nach einer erneuten Verstärkung wird die 50 Hz-Spannung über einen Phasengleichrichter gleichgerichtet (diese ist den Unterschieden der Drehwinkel α und β proportional) und gegen eine Spannung aus dem Kompensations-Differenzverstärker verglichen. Der Spannungsabfall an einem Widerstand im Kompensationskreis ist dem Drehwinkel α proportional und wird durch ein registrierendes Millivoltmeter aufgezeichnet. Die Wellenlängen-Einstellung des Monochromators wird durch einen kleinen Synchronmotor laufend verändert, so daß man das Spektrum des Drehwinkels in Abhängigkeit von der Zeit aufzeichnen kann. Das Gerät ist sehr empfindlich, so daß nur 15—20 mg Substanz benötigt werden. Die Abweichungen der Winkelbestimmungen liegen bei 270 nm bei $\pm 0{,}8°$, bei 400 nm bei $\pm 0{,}3°$. Von Desoxycorticosteron (in Dioxan gelöst) wird das Spektrum des Drehwinkels als Muster wiedergegeben.

[1] Bull. Soc. chim. France **1959**, 1495—1498. Serv. Recher., Roussel-Uclaf (Frankreich). H. Pohl

Zur Ermittlung der günstigsten Arbeitsbedingungen bei säulenchromatographischen Trennungen haben M. M. Senjavin und E. P. Žirov[1] Untersuchungen durchgeführt. Verff. unterscheiden zwischen der linearen und der Volumendurchflußgeschwindigkeit. (Letztere ergibt sich durch Division des Durchflußvolumens durch das Volumen der Säulenfüllung.) Die besten Trennungen werden erreicht, wenn bei kleinen Volumengeschwindigkeiten die lineare Durch-

flußgeschwindigkeit möglichst groß ist. Verff. empfehlen daher, Füllhöhe l und Volumendurchmesser d so abzustimmen, daß $l:d$ etwa 50 wird.

[1] Zavodskaja Laborat. **25**, 914—916 (1959) [Russisch]. Inst. Geochemie anal. Chemie, Akad. Wiss., UdSSR. H. WUNDERLICH

Fällungschromatographie. Den Einfluß des Konzentrationsverhältnisses in der Ausgangslösung auf die Form der Chromatogramme untersucht ST. A. IVANOV[1] für binäre Systeme. Auf Grund von theoretischen Überlegungen für verschiedene Ausgangsbedingungen (verschiedene Konzentration der zu bestimmenden Ionen, Konzentration des Fällungsmittels, Größe der Löslichkeitsprodukte) stellt Verf. folgende Regel auf: Eine fällungschromatographische Trennung läßt sich erreichen, wenn die Löslichkeitsprodukte der gebildeten Niederschläge genügend voneinander abweichen und wenn die Konzentrationsverhältnisse in der Ausgangslösung einigen Auswahlregeln entsprechen. Tritt eine scharfe reine Zone auf, so wird diese von der Substanz mit dem kleinsten Löslichkeitsprodukt gebildet.

[1] Ž. anal. Chim. **14**, 729—731 (1959) [Russisch]. (Mit engl. Zus.fass.) Höheres Inst. f. Lebensmittel- und Geschmackstoffindustrie, Plovdiv (Bulgarien).
H. WUNDERLICH

Gaschromatographie. *Bei quantitativen Analysen mit Wärmeleitzellen* kann man dem zu bestimmenden Substanzgemisch eine Markierungssubstanz zusetzen (Markierungsmethode[1]). Wenn nun in einem Mehrkomponentensystem die Substanzkonzentrationen sehr unterschiedlich sind und die Retentionsvolumina der einzelnen Komponenten sehr stark differieren, wird die Markierungsmethode sehr ungenau. Nach E. H. LEE und G. D. OLIVER[2] kann dies umgangen werden, wenn mehrere Markierungssubstanzen zugesetzt werden, deren Konzentrationen und Retentionsvolumina in der gleichen Größenordnung liegen wie die der zu bestimmenden Verbindungen. Besonders bei Spurenanalysen wird hierdurch eine größere Genauigkeit erzielt.

[1] Vgl. E. BAYER, Gaschromatographie, S. 49. Berlin, Göttingen, Heidelberg: Springer 1959. — [2] Analyt. Chemistry **31**, 1925 (1959). Plastics Div., Monsanto Chem. Co., Texas City, Tex. (USA). E. BAYER

In einer umfassenden Untersuchung über die quantitative elektrolytische Bestimmung von Metallionen mit einem 3fach molaren Zusatz an ÄDTA als Leitsalz hat M. TANAKA[1] die in der Tabelle zusammengestellten Abscheidungspotentiale angegeben:

Tabelle

Leitsalz	Abscheidungspotential ± 0,03 V gegen die gesätt. Kalomelelektrode							
	Au	Ag	Hg	Cu	Bi	Pb	Pb	Cd
5 g NH_4NO_3, 2 g, $NH_2OH \cdot HCl$ in 200 ml Wasser + ÄDTA; p_H 3	+0,60	+0,40	−0,20	−0,45	−0,50	−0,70	−0,65	—
5 g CH_3COONH_4 in 200 ml Wasser + ÄDTA; p_H 5	+0,40	+0,30	−0,30	−0,60	0,60	−0,70	−0,65	−0,65
20 ml Ammoniak, 2 g NH_4Cl in 180 ml Wasser + ÄDTA; p_H 10	−0,15	−0,05	−0,30	−0,70	−0,70	—	−1,00	—

Cu, Cd und Ag werden quantitativ abgeschieden. Bei den übrigen Metallen finden nur schlechte Abscheidungen statt, da ÄDTA okkludiert wird.

[1] Jap. Analyst 8, 501—508 (1959) [Japanisch]. (Nach engl. Zus.fass. ref.) Sumitomo Metal Mining Co., Ltd. (Japan). K. Cruse

Polarographie. *Der Einfluß von Sauerstoff auf das Wechselstrompolarogramm von Metallionen* ist nach Untersuchungen von H. Shirai[1] völlig ausgeschaltet, wenn Cd in Ammoniumsalzlösung als Grundelektrolyt polarographiert wird. Die Eichkurven für *Cd*, *Pb* und *Zn* sind in Ammoniumnitratlösung streng linear, auch wenn nicht von Sauerstoff befreit wird. Es wird außerdem festgestellt, daß sich KJ oder KBr besser als KCl als Grundelektrolyt eignen und daß die Spitzenhöhen von Zn und In durch Zusatz von Kaliumhydrogenphthalat wachsen. Sauerstoff darf bei Analyse mit dem Wechselstrom-Brücken-Polarographen aus Pb-Lösungen nicht mit Wasserstoff entfernt werden, da sich die Reduktionsspitze dann ändert. Bei der gleichen Analyse erwies sich die Zn-Spitze als p_H-abhängig.

[1] Jap. Analyst 8, 311—314 (1959) [Japanisch]. (Nach engl. Zus.fass. ref.) Univ. Tokyo (Japan). K. Cruse

Die Reinigung von Tetrabutylammoniumjodid für polarographische Zwecke läßt sich nach L. Silverman und W. G. Bradshaw[1] in einfacher Weise durch Umkristallisieren erreichen, wenn 5 g Jodid in 50 ml eines Gemisches von Methanol und Aceton im Verhältnis 1:3 gelöst werden und wenn man das Jodid nach Filtration und Abdunsten über Nacht bis auf etwa 25 ml durch Zugabe von 5 ml Wasser kristallisieren läßt. Lösungen des auf diese Weise gereinigten und in einer Ausbeute von 64% gewonnenen Jodids lassen sich in der Polarographie bis zu einem Reduktionspotential von −2,60 V (Tropfelektrode mit $t = 5{,}70$ sec, $m = 1{,}194$ mg/sec bei offenem Stromkreis und 53 cm Hg-Säule) verwenden. Bei Verwendung anderer Lösungsmittel werden bei der Umkristallisation in der Regel schlechtere Ausbeuten erhalten.

[1] Analyt. Chemistry **31**, 1672 (1959). Atomics Internat., North American Aviation Inc., Canoga Park, Calif. (USA). K. Cruse

Hochfrequenztitration. K. Ishii, S. Hayashi und S. Fujiwara[1] haben über *allgemeine theoretische Zusammenhänge bei der Hochfrequenztitration* berichtet und ein *Hochfrequenztitrimeter* beschrieben, welches, mit einem Franklin-Oscillator ausgestattet, durch besondere Frequenzstabilität ausgezeichnet ist. Gemessen wird der *photochemische Einfluß bei Belichtung* (mit Blau- bzw. Rotfilter) *von Blättern der Sojabohne und von Weizen* in einer Platten-Meßzelle, deren Platten (5×8 cm) für die Belichtung durchlöchert sind und einen Abstand von 2 mm haben. Mit guter Reproduzierbarkeit werden hierbei innerhalb weniger Minuten Effekte meßbar, die nach Abschalten der Belichtung vollständig zurückgehen (2—5 min) und die bei Belichtung mit Blaufilter vorwiegend in einer Änderung der Resistanz, bei Rotfilter aber einem Mischeffekt aus Resistanz- und Kapazitanzänderung bestehen.

[1] Analyt. Chemistry **31**, 1586—1589 (1959). Univ. Electro-Communication, Tokyo (Japan). K. Cruse

1-Hydroxyacridin als neues analytisches Reagens. M. Ishibashi, Y. Yamamoto und H. Yamada[1] haben das zuerst von H. Irving, E. J. Butler und M. F. Ring[2] untersuchte 1-Hydroxyacridin neu geprüft und unter dem Namen *Neo-oxin* als Reagens vorgeschlagen. 1-Hydroxyacridin ($C_{13}H_9ON$, FP 115—116° C) besitzt wegen seines höheren Molekulargewichts gegenüber dem Oxin in der Gravimetrie und auch in der Colorimetrie mit Lösungsmittelextraktion gewisse Vorteile. Da es mit Al-Ionen nicht reagiert, kann es zur Bestimmung einiger Metalle in Gegenwart

von Aluminium verwendet werden. Das Absorptionsspektrum gepufferter alkoholischer 10^{-3} m 1-Hydroxyacridinlösungen besitzt im UV-Gebiet mehrere Absorptionsbanden, deren Maxima sich mit steigenden und fallenden p_H-Werten nach längeren Wellen verschieben. Diese Verschiebung hängt wie bei Oxin mit Strukturänderungen infolge Dissoziation zusammen. Für die (negativen Exponenten der) sauren und basischen Ionisationskonstanten ergeben sich bei den Wellenlängen 300—380 nm im Mittel die Werte $p_{Ka} = 9{,}84$ und $p_{Kb} = 5{,}31$. Verglichen mit den entsprechenden Zahlen bei Oxin (9,70 bzw. 9,08) ist also p_{Ka} etwas größer. p_{Kb} beträchtlich kleiner als bei Oxin. Die Chloroformlösungen der Chelate von Cu, Zn, Ni und Co besitzen im sichtbaren Gebiet spezifische Absorptionsbanden, deren Maxima bei folgenden Wellenlängen liegen: Cu 502, Zn 478, Ni 468, Co 480 nm. Das Reagens selbst absorbiert im sichtbaren Gebiet nicht merklich. Die Extrahierbarkeit der Chelate aus der wäßrigen Phase in Chloroform hängt weitgehend vom p_H-Wert ab. Bei einmaligem Ausschütteln mit Chloroform gehen die Chelate von Cu, Zn, Ni, Co bei den p_H-Werten 8,7, 11,7, 9,1 bzw. 11,7 praktisch quantitativ (zu 99,1—99,9%) in die organische Phase über. Komplexbildende Reagentien (Cyanid, ÄDTA, Weinsäure) verhindern die Fällung und Ausschüttelung der Chelate. Die Chloroformlösungen der Chelate zeigen in den ersten Minuten nach der Herstellung eine leichte Abnahme der Lichtabsorption, 60—180 min nach der Herstellung bleiben die Absorptionswerte unverändert, nach eintägigem Stehen sind die Lösungen weitgehend zersetzt. — *Ausführung der Extraktionen.* 10 ml 10^{-3} m Cu-, Ni-, Zn-, oder Co-Sulfatlösung und 5 m alkoholische 10^{-2} m Reagenslösung wurden mit Pufferlösung auf 100 ml verdünnt. Nach dem Stehen wurden die Niederschläge mit 50 ml frisch destill. Chloroform ausgeschüttelt. In den abgetrennten wäßrigen Phasen wurden die dort verbliebenen Reste der Metallsalze mit empfindlichen spektrophotometrischen Methoden oder auch jodometrisch bestimmt.

[1] Bull. chem. Soc. Japan **32**, 1064—1068 (1959). Kyoto Univ. Sakyo-ku (Japan). — [2] J. chem. Soc. (London) **1949**, 1489. Liselott Johannsen

Die Eignung einiger Triphenylmethanfarbstoffe als Indicatoren für die Titration von Basen mit Perchlorsäure in Eisessig wurde von O. W. Kolling und McC. L. Smith[1] untersucht. Verwendet wurden 0,001 m Lösungen von *Auramin*, *Brillantgrün*, *Pararosanilin*, *Viktoriablau* und *Rhodamin B* in Eisessig. *Titriert* wurden 0,1 m Lösungen von *Natriumacetat*, *o-Chloranilin* und *Harnstoff* mit 0,09 m Perchlorsäure in Eisessig. Die Titration wurde mit Glas-Kalomelelektroden potentiometrisch verfolgt. Als gut brauchbar erwiesen sich Brillantgrün (Umschlag von Blaugrün nach Grün) und Malachitgrün (Blaugrün/Grün), etwas weniger günstig Pararosanilin (Rot/Violett) und Viktoriablau (Blau/Blaugrün). Durch Aufnahme der Absorptionsspektren wurde das Verhältnis der Basenform des Indicators zur Säureform verfolgt und daraus die Halbneutralisationszahl $pL/_{1/2}$ (der Wert, bei dem der Indicator zur Hälfte als Säure- und zur Hälfte als Basenform vorliegt) berechnet. Für die photometrische Titration beim Absorptionsmaximum kann Rhodamin B verwendet werden. Liegt der Wert von L zwischen 2,25 und 5,10, ist die Verwendung von Indicatormischungen günstig, z. B. Brillantgrün und Auramin oder Brillantgrün und Rhodamin.

[1] Analyt. Chemistry **31**, 1876—1879 (1959). Friends Univ. Wichita, Kan. (USA). G. Denk

Titration organischer Basen in Nitromethan. C. A. Streuli hat hervorgehoben, daß *Nitromethan* sich als ausgezeichnetes *Lösungsmittel zur Titration schwacher organischer Basen* eignet, wenn 25 ml einer Lösung von etwa einem Millimol Substanz in 100 ml Nitromethan mit Nitromethan auf 100 ml aufgefüllt

an der Glaselektrode und gegen eine Kalomelelektrode mit wäßriger Elektrolytbrücke mit 0,05 n Perchlorsäurelösung (4,2 ml 72%ige Perchlorsäure mit Nitromethan auf 1 l aufgefüllt) titriert werden. Für Basen mit pK < 8 in Wasser verlaufen die Titrationskurven im Bereich 20—80%iger Neutralisation im wesentlichen geradlinig (1,1 mV-% Neutralisation) und lassen anschließend einen gut auswertbaren Sprung im Äquivalenzpunkt erkennen. Ausnahmen sind die Titrationskurven für Harnstoff und für monosubstituierte Amide, wie für Amide mit einem Anstieg von über 2 mV-% Neutralisation. Titriert werden *Diphenylamin, substituierte Aniline, Diphenylguanidin, Pyridin, Harnstoff, Methylacetanilid, Acrylamid, 2-Pyrrolidinon, Tris-2-cyanoäthylamin, Äthylnitrobenzimidat, Äthylbenzimidat,* eine Reihe weiterer substituierter *aliphatischer* und *aromatischer Amine* und *Anilide*, insgesamt fast 40 Verbindungen. Die pK-Werte in Wasser werden zu den Ergebnissen in Nitromethan in Parallele gesetzt. Für die grundsätzlich höhere Basizität in Nitromethan werden daraus Gleichungen zur Berechnung der Verschiebung des Potentials bei 50%iger Neutralisation angegeben.

[1] Analyt. Chemistry **31**, 1652—1654 (1959). American Cyanamid Co., Stamford, Conn. (USA). K. Cruse

IV. Spezielle analytische Methoden

2. Analyse von Materialien der Industrie, des Handels und der Landwirtschaft

Um zur Bestimmung von Sauerstoff, Wasserstoff und Stickstoff in Reinstmetallen mehr Aussagen machen zu können, haben A. L. Beach und W. G. Guldner[1] systematische Untersuchungen über die sorbierende Wirkung verschiedener im Verlaufe der Gasanalyse nach dem *Vakuum-Schmelzverfahren* möglicherweise auftretender Metallfilme angestellt und dabei gefunden, daß Kohlenmonoxyd und Stickstoff von Kohlenstoff-, Eisen-, Platin-, Germanium-, Platin-Titan- und Nickelfilmen nicht wesentlich zurückgehalten und die künstlich zugesetzten Gasmengen mit großer Genauigkeit wieder gefunden werden. Im einzelnen wurde festgestellt, daß bei *Kohlenstoffilmen* Kohlenmonoxyd und Stickstoff innerhalb der analytischen Grenzen und im gemessenen Bereich (2—150 mm^3) vollständig wiedergefunden werden konnten. Bei Wasserstoff hingegen wird der durch Chemosorption hervorgerufene Verlust mit der zugesetzten Gasmenge immer größer. Untersuchungen der Gase an Kohlenstoffilmen in Verbindung mit Eisen-, Platin-, Platin-Titan und- Germaniumbädern zeigten sehr ähnliche Ergebnisse, nur war der Wasserstoffverlust geringer. In *Nickelbädern* zeigte sich, daß wohl Stickstoff sehr sicher wieder gefunden werden konnte, daß aber die Bestimmung von Kohlenmonoxyd zu schwankenden Werten führt, die aber noch keinen sehr großen Einfluß auf die Gewichtsprozente der Analysenergebnisse haben werden. Die Bestimmung des Wasserstoffs ist bis 50 mm^3 sowohl mit negativen als auch mit positiven Fehlern belastet, bei höheren Mengen zeigt sich jedoch nur ein negativer Fehler. Mit *Aluminiumbädern* wurden bei Kohlenmonoxydzugaben 60—80% zu wenig gefunden, so daß es unmöglich erscheint, mit diesem Verfahren eine Sauerstoffbestimmung durchzuführen. Stickstoff und Wasserstoff hingegen werden in zufriedenstellender Weise wiedergefunden. Von den aus *Manganbädern* erzeugten Filmen wird Kohlenmonoxyd praktisch vollständig aufgenommen, jedoch lassen sich die anderen Gase mit zufriedenstellender Genauigkeit wiederfinden. — Die Badtemperaturen waren bei Aluminium 1550° C, bei Eisen, Germanium, Nickel und Mangan 1650° C, bei Platin und Platin-Titan 2000° C.

[1] Analyt. Chemistry **31**, 1722—1726 (1959). Bell Telephone Labs., Murray Hill, N. J. (USA). H. Malissa

Für die Bestimmung von Bleispuren in hochreinen Metallen benutzen T. YANAGIHARA, N. MATANO und A. KAWASE[1] die geringe Löslichkeit des Bleichromats und fällen das Blei in dieser Form zusammen mit Bariumchromat als Trägersubstanz. Die Probe wird in jedem Fall in ihr Perchlorat übergeführt, Chrom wird in Perchlorsäure aufgelöst, zu Chromsäure oxydiert und der Probe zugefügt. Für die Fällung wird ein Bariumsalz in verdünnter Essigsäure gelöst. Die Chromatfällung erfolgt, wenn die Proben Kupfer, Zink und Silber enthalten, in ammoniakalischer Lösung, in Gegenwart von Nickel und Magnesium in schwach alkalischem Medium. Die Mischung des zusammen gefällten Barium- und Bleichromats wird mit einem Perchlorsäure-Salzsäure-Gemisch behandelt, um das Chrom zu entfernen. Das Blei wird entweder spektralphotometrisch mit Dithizon oder durch „square-wave"-Polarographie[2] unter Verwendung von Salzsäure als Trägerelektrolyt bestimmt. Einige Mikrogramme Blei können auf diese Weise erfaßt werden.

[1] Jap. Analyst **8**, 576–582 (1959) [Japanisch]. (Nach engl. Zus.fass. ref.) Nat. Res. Inst. Metals (Japan). — [2] BARKER, G. C., u. I. L. JENKINS: Analyst **77**, 685 (1952); vgl. diese Z. **140**, 45 (1953). S. ECKHARD

Eine photometrische Methode der Zinnbestimmung mit Phenylfluoron in Kupfer- und Bleilegierungen mit Gehalten von 0,1–25% hat C. L. LUKE[1] ausgearbeitet. 5 mg oder auch mehr folgender Elemente stören die Farbentwicklung in 50 ml Volumen nicht: As^V, Te, Se, Cu, Zn, Mn, Cd, Ni, Al und Mg. Co stört etwas und kann durch Kompensationsmessung ausgeschaltet werden. 100 μg Bi oder Fe oder 50 μg Ti und 25 μg Sb sind noch ohne Einfluß. Wenn 100 μg Sb anwesend sind, muß die Farbentwicklung bei 15° C erfolgen. Die Einmeßkurve ist dann natürlich unter den gleichen Bedingungen aufzustellen. Der Säuregehalt und die Zeit der Farbentwicklung sind genau einzuhalten, um reproduzierbare Ergebnisse zu erhalten. Kontrollanalysen von Standardproben und synthetischen Legierungen mit Zinngehalten zwischen 1 und 86% zeigten gute Übereinstimmung mit den Sollwerten. — *Ausführung.* 0,0500–0,2000 g Probematerial werden im bedeckten Becherglas unter Erwärmen gelöst, und zwar bei Cu-Legierungen mit 2 ml Salpetersäure, bei Pb-Legierungen mit 2 ml Perchlorsäure-Salpetersäure-Mischung (5 + 1). Dann fügt man 0,5 ml Perchlorsäure (wenn nicht schon anwesend) und 17 ml Schwefelsäure hinzu und raucht unter Umschwenken bis auf ein Volumen von etwa 15 ml ein, damit alle Perchlor- und Salpetersäure entfernt wird. Nach dem Abkühlen verdünnt man auf das doppelte Volumen, kocht kurz auf, spült mit wenig 15%iger Schwefelsäure in einen 100 ml-Meßkolben über und füllt bei 20° C zur Marke auf. Man läßt etwa 10 min das Bleisulfat absitzen, pipettiert dann 5,0 oder 10,0 ml in einen trocknen 100 ml- oder 200 ml-Meßkolben und füllt mit 15%iger Schwefelsäure zur Marke auf. Eine Abnahme von 10,0 ml wird im 50 ml-Meßkolben nacheinander unter Umschütteln mit 10 ml einer Pufferlösung[2] von p_H 5, 1 ml 1%iger Gummi arabicumlösung (s.u.) und 10 ml Phenylfluoronlösung[2] versetzt, mit Wasser bis auf 49 ml verdünnt und der Kolben bei 25° C 8 min lang im Wasserbad zur Farbentwicklung stehen gelassen. (Der p_H-Wert der Lösung beträgt etwa 1,2.) Nach dem Auffüllen und Umschütteln wird spätestens 10 ± 0,5 min nach Reagenszugabe bei 510 nm gemessen. Die Einmeßkurve stellt man mit Zinn-Testlösung (5 μg Sn/ml) auf, die man aus einer Stammlösung, die 20% Schwefelsäure enthält, jeweils frisch durch Verdünnen mit 15%iger Schwefelsäure herstellt. 0, 2,5, 5,0, 7,5 und 10,0 ml dieser Lösung werden mit 15%iger Schwefelsäure auf 10 ml ergänzt und, wie oben beschrieben, behandelt. — *Gummi arabicumlösung.* 2,5 g fein gepulvertes Gummi arabicum werden in 250 ml kochendem Wasser gelöst,

abgekühlt, mit 0,5 g Benzoesäure (in 5 ml Methanol gelöst) versetzt und filtriert. Haltbarkeit 4 Wochen.

[1] Analyt. Chemistry **31**, 1803—1804 (1959). Bell Telephone Labs., Murray Hill, N. J. (USA). — [2] Luke, C. L.: Analyt. Chemistry **28**, 1276 (1956); vgl. diese Z. **156**, 49 (1957). H. Pohl

Eine spektralphotometrische Methode zur Bestimmung von Antimon in Zink oder Zinkoxyd mit Rhodamin B beschreiben R. E. van Aman, F. D. Hollibaugh und J. H. Kanzelmeyer[1]. Man extrahiert das Antimon(V) aus salzsaurer Lösung in Isopropyläther und photometriert bei 550 nm gegen Wasser. Noch 20 μg Antimon lassen sich auf $\sim 1\%$ genau bestimmen. — *Ausführung.* Die 5—20 μg Antimon enthaltende Probe löst man in möglichst wenig Königswasser, setzt 1 ml konz. Schwefelsäure zu, dampft bis zum Nebeln ein, setzt nach dem Abkühlen 10 ml konz. Salzsäure zu, überführt in einen 125 ml-Scheidetrichter, spült das Becherglas mit 7 ml konz. Salzsäure nach, schüttelt 30 sec mit 15 ml Isopropyläther, setzt 7 ml Wasser zu, kühlt 10 min lang auf 25° C ab, schüttelt nochmals 30 sec und verwirft die wäßrige Phase. Man setzt nun 20 ml 0,01%ige Rhodamin B-Lösung in 0,5 n Salzsäure zu, schüttelt 30 sec, verwirft wiederum die wäßrige Phase und photometriert in 1 cm-Zellen bei 550 nm.

[1] Analyt. Chemistry **31**, 1783—1785 (1959). St. Joseph Lead Co., Monaco, Pa. (USA). Klaus Brodersen

Die Bestimmung von Gasen in Plutonium, Uran und Zirkonium führt R. E. Taylor[1] durch Vakuumaufschmelzen (Heißextraktionsverfahren) durch. Die beim Aufschmelzen entbundenen Gase werden wie üblich in einem bekannten Volumen gesammelt, der Gesamtdruck wird gemessen. Dann analysiert Verf. die Gasproben *massenspektrometrisch*, um den *Stickstoff direkt* und im übrigen auch *kleinste Gasmengen* erfassen zu können. Für nichtradioaktive Proben wird ein Platinbad zum Aufschmelzen benutzt, das nicht wie ein Eisenbad infolge des erhöhten Kohlenstoffgehaltes rasch sehr viscos wird. Das Platin wird zurückgewonnen. Nach der Entgasung jeder einzelnen Probe senkt Verf. die Temperatur auf 1100° C und wirft ein Stück vakuumerschmolzenes Zinn in den Tiegel ein. Dieses verflüchtigt sich sofort und kondensiert auf den Wänden des Verbrennungsrohrs, wo eine dünne Zinnschicht jeden reaktionsfähigen Metallfilm, der die Gasgewinnung verhindern könnte (Getterung), überdeckt. Das Verfahren versagt bei der Bestimmung des Stickstoffs in Zirkonium wegen der hohen Stabilität des Zirkoniumnitrids.

[1] Anal. chim. Acta (Amsterdam) **21**, 549—555 (1959). Hanford Atomic Prod. Operation, General Electric Co., Richland, Wash. (USA). S. Eckhard

Über die Bestimmung kleiner Mengen Neptunium in Plutoniummetall berichten L. J. Slee, G. Phillips und E. N. Jenkins[1]. Um einen Np-Gehalt von 10 bis 2000 ppm zu bestimmen, schlagen sie vor, das Neptunium mit Eisen(II)-chlorid zur 4wertigen Form zu reduzieren und quantitativ mit einer Lösung von 2-Thenoyltrifluoraceton (TTA) in Xylol zu extrahieren; aus dem Extrakt wird das Neptunium dann mit Salpetersäure (zu 99%) ausgezogen und in einem ÄDTA-Medium mittels eines Square-wave-Polarographen gemessen. Das Np liegt als Begleiter des Plutoniums als Alphastrahler ^{237}Np vor mit einer Halbwertszeit von $2{,}20 \cdot 10^6$ Jahren. Fe, U, Cu, Pb und Cd stören die Analyse der Plutoniumprobe und die Np-Bestimmung nicht. Zur Bestimmung des wiedergewonnenen Np bei Mengen im Bereich von 10—100 ppm muß man ^{239}Np (Halbwertszeit 2,3 Tage) als Indicator zusetzen, welches durch Bestrahlung von ^{238}U und Extraktion mit TTA-Lösung erhalten wird; durch Vergleich der Gamma-Spektren erhält man ein Ergebnis von $100 \pm 2\%$. Die nach dieser Methode in einer 300 mg-Probe von einem Np-Gehalt von etwa

500 ppm gefundenen Werte stimmen auf $\pm 2\%$. Die äußerste Empfindlichkeit des Polarographen beträgt mindestens 0,4 μg Np/ml, entsprechend 2 ppm je 1 g Probe; bei dieser geringen Menge ist der Fehler $\pm 30\%$. — *Ausführung.* In einem 30 ml-Kolben versetzt man 300 mg metallisches Plutonium mit 5 ml dest. Wasser und läßt 0,5 ml 10 m Salzsäure zutropfen; bei Nachlassen der Reaktion fügt man noch 1 ml 10 m Salzsäure und 2 ml 5 m Hydroxylaminchlorhydrat zu und erwärmt bis alles gelöst ist. Nach Verdünnen auf 10 ml und Abkühlenlassen gibt man etwa 250 mg festes $FeCl_2 \cdot 4H_2O$ hinzu und nach Beendigung der Reduktion (etwa 5 min) 5 ml 0,5 m TTA in Xylol, rührt 10 min durch, trennt die organische Phase ab und wiederholt die Extraktion. Darauf versetzt man die organische Phase mit 1 ml 1 m Salzsäure, rührt 5 sec, zieht mit 5 ml 10 m Salpetersäure aus und wiederholt die Behandlung mit weiteren 5 ml; jetzt dampft man die salpetersaure Lösung auf 3 ml ein, gibt 5 ml Salpetersäure (D 1,42) hinzu, dampft ein und wiederholt das Abdampfen 2 mal. Dann oxydiert man mit 3 ml Perchlorsäure und weiterer Salpetersäure (D 1,42), raucht die Perchlorsäure ab, löst die festen Perchlorate unter Erwärmen in 1 ml Salzsäure (D 1,18) und 1 ml Wasser, versetzt mit 2 ml 5 m Hydroxylaminchlorhydrat und dampft langsam auf 0,5 ml ein. Jetzt fügt man 0,5 ml 1 m ÄDTA-Lösung und 4 –7 Tr. Ammoniaklösung (D 0,880) bis p_H 5,5 bis 6,5 zu und verdünnt auf 5 ml. 2,00 ml davon pipettiert man in eine Polarographenzelle, die unter Stickstoff steht, und nimmt das Polarogramm bei —0,8 Volt gegen die Quecksilber-Anode auf; danach fügt man etwa 0,2 ml salzsaure Np-Standard-Lösung zu und polarographiert wieder.

[1] Analyst **84**, 596—603 (1959). Atomic Energy Res. Establ. Harwell, Berksh. (England). LISELOTT JOHANNSEN

Eine radiochemische Bestimmungsmethode für Hafnium in Zirkonium beschreibt N. GETOFF[1]. Der Verf. weist darauf hin, daß bei der *Neutronenaktivierungsanalyse* und einer Bestrahlungsdauer von 6 min im Fluß von 10^{12} n/sec/cm^2 noch $3 \cdot 10^{-8}$ g ^{179m}Hf bzw. $3 \cdot 10^{-6}$ g ^{180m}Hf bzw. $1{,}4 \cdot 10^{-5}$ g ^{181}Hf nachgewiesen werden können. Auch die Verwendung der *Tracermethode* mit ^{181}Hf als Leitisotop und die *Verdünnungsanalyse* werden vom Verf. empfohlen.

[1] Atompraxis **5**, 472—474 (1959). KLAUS BRODERSEN

Für die Bestimmung von 0,0001—0,01% Niob in Tantal benutzt K. S. BERGSTRESSER[1] zunächst das von M. J. CABELL und I. MILNER[2] beschriebene Verfahren der chromatographischen Abtrennung des Niobiums vom Tantal. Zur Entfernung der Fluoridionen wird im Eluat Nb zusammen mit Al als Trägersubstanz, die in Form von $AlCl_3$ zugesetzt wird, gefällt. Die Endbestimmung des Nb erfolgt durch photometrische Messung des Niobthiocyanatkomplexes bei 386 nm, wobei die Farbvertiefung in ätherischer Lösung ausgenutzt wird. Dieses photometrische Verfahren ist verschiedentlich, z. B. von A. E. O. MARZYS[3] beschrieben worden. Viele andere Metalle geben bekanntlich ebenfalls gefärbte Komplexverbindungen mit Rhodanidionen; die Gehalte an solchen Elementen betrugen in den untersuchten hochreinen Tantalproben immer nur einige ppm und wurden vernachlässigt.

[1] Analyt. Chemistry **31**, 1812—1814 (1959). Univ. of Calif., Los Alamos, N. M. (USA). — [2] Anal. chim. Acta (Amsterdam) **13**, 258 (1955); vgl. diese Z. **151**, 441 (1956). — [3] Analyst **79**, 327 (1954); **80**, 194 (1955); vgl. diese Z. **144**, 368 (1955); **148**, 227 (1955/56). S. ECKHARD

Zur spektrochemischen Bestimmung von Wolfram in Molybdän benutzen N. I. TARASEVIČ, A. D. CHLYSTOVA und E. A. PAK[1] ein Anreicherungsverfahren mit Ammoniummolybdatophosphat aus stark saurer Lösung. Der Fällungsmechanismus scheint durch Adsorption und Bildung komplexer Salze erklärbar zu sein. Die

Fällungsausbeute wird mit radioaktivem Natriumwolframat (^{185}W) geprüft und beträgt 90%. — *Analysenvorschrift.* Die zu untersuchende Probe mit 1 g Molybdän (falls Molybdän als Metall vorhanden ist, wird es zuerst durch Glühen bei 500 bis 600° C in Oxyd übergeführt) wird in 30 ml Ammoniak (1:2) gelöst und mit 20 ml konz. Salzsäure und 50 ml Wasser versetzt. Nach dem Abkühlen gibt man 5 ml 2%ige $(NH_4)_2HPO_4$-Lösung hinzu. Nach 30 min wird abfiltriert, der Rückstand verascht, bei 600° C geglüht, zerkleinert und mit Kohlepulver vermischt (1:1). Zur Herstellung der Eichproben löst man 3,7 g Paramolybdat oder 3 g Molybdäntrioxyd in Ammoniak und verfährt weiter wie bereits beschrieben, um Wolframspuren vollkommen abzuscheiden. Nach der Fällung mit Ammoniumphosphat wird dem Filtrat, das etwa 1 g reines Molybdän enthält, eine bestimmte Menge Wolframstandardlösung zugesetzt und mit 0,25 ml 2%iger Ammoniumphosphatlösung gefällt. Es wird filtriert, der Rückstand bei 600° C geglüht, der Anreicherungskoeffizient berechnet und mit Kohlepulver vermischt. Je 20 mg werden mit einem Wechselstrombogen bei 6 Amp. angeregt und mittels des Spektrographen KS-55 aufgenommen. Die Analysenlinienpaare sind: W 2946,98/Mo 2951,81 für den Konzentrationsbereich von 0,005—0,1%; W 4008,75/Mo 4009,36 von 0,001—0,01%. Bei der Aufstellung der Eichkurven wird der Anreicherungskoeffizient (16—18) in Rechnung genommen. Der relative Fehler beträgt 20%.

[1] Zavodskaja Lab. **25**, 955—956 (1959) [Russisch]. Staatl. Univ. Moskau (UdSSR).

Damjana Vukanović

Eisen, Stahl. *Die zur Borbestimmung in Stählen* in den Vereinigten Stahlwerken in Kladno benutzten und erprobten Verfahren beschreiben B. Kysil und P. Vobora[1] Gehalte bis 0,2% B werden durch Anfärbung mit Chinalizarin und Photometrieren bei 572 und 600 nm bestimmt[2]. Für Borgehalte von 0,2—5% wird die alkalimetrische Titration der Borsäure nach der Reaktion mit Mannit, jedoch mit potentiometrischer Endpunktsbestimmung benutzt. Eine Abtrennung von den störenden Elementen erfolgt durch Elektrolyse an der Quecksilberkathode, an einer Ionenaustauschersäule oder durch Austreibung der Borsäure als Methylester. Es ergeben sich für die verschiedenen Stahlsorten die folgenden Analysengänge. *1. Bis 0,2% B.* Legierte und unlegierte, schwefelsäurelösliche Stähle ohne V und Ti werden in Schwefelsäure bzw. Schwefelphosphorsäure gelöst und an der Quecksilberkathode elektrolysiert. Dann wird mit Chinalizarin angefärbt und photometriert. Enthalten diese Stähle V, Ti oder W, so wird die Borsäure durch Destillation aus methylalkoholischer Lösung abgetrennt; dann erfolgt Endbestimmung mit Chinalizarin. Säureunlösliche Sonderlegierungen und hochlegierte Stähle werden mit Na_2O_2 im Eisentiegel aufgeschlossen; Abtrennung des Bors erfolgt wieder durch Destillation, die Endbestimmung mit Chinalizarin. *2. 0,2—5% B.* Salzsäurelösliche Stähle werden in Salzsäure gelöst und mit Wasserstoffperoxyd oxydiert. Die Abtrennung der Begleitelemente geschieht in einer Kationenaustauschersäule. Nach der Reaktion mit Mannit erfolgt potentiometrische p_H-Messung. Salzsäureunlösliche Stähle werden im Eisentiegel mit Na_2O_2 aufgeschlossen, die Borsäure wird als Methylester abgetrennt, die Endbestimmung erfolgt durch alkalimetrische Titration.

[1] Collect. czechoslov. chem. Commun. **24**, 3893—3902 (1959). Vereinigte Stahlwerke Kladno (ČSR). — [2] Rudolph, G. A., u. L. C. Flickinger: Steel **112**, 114 (1943).

S. Eckhard

Zur Bestimmung von Titan in titanhaltigen Edelstählen entfernen M. N. Nadkarni, G. G. Nair und Ch. Venkatesvarlu[1] zunächst das Eisen durch Extraktion mit Diäthyläther; Titan wird dann zusammen mit einer ausreichenden Menge zugesetzten Zirkoniums als Phosphat gefällt und schließlich nach der

Wasserstoffperoxydmethode photometrisch bestimmt. — *Arbeitsweise.* Man löst 0,1 g Probegut in 20 ml Salzsäure (1:1) unter Erwärmen, setzt etwa 1 ml Salpetersäure zu und kocht. Man kühlt ab, neutralisiert mit Ammoniumhydroxyd und setzt dann konz. Salzsäure zu, um eine Acidität von 6 n zu erreichen. Man kühlt auf Zimmertemperatur ab, bringt in einen Scheidetrichter und extrahiert 3mal mit je 50 ml Äther. Man gibt die wäßrige Schicht in ein 400 ml-Becherglas, erhitzt zur Austreibung des Äthers, setzt 20 ml Zirkonylchloridlösung (0,3% Zr) zu, verdünnt auf das doppelte Volumen und fällt mit 20 g Diammoniumhydrogenphosphat. Man läßt 5—10 min absitzen, filtriert (Whatman-Filter Nr. 541), wäscht 4—5mal mit Waschflüssigkeit (10 g des Phosphats und 10 ml konz. Salzsäure im Liter) und spült den Niederschlag mit heißem Wasser in das ursprüngliche Becherglas zurück. Man macht die Lösung mit Natronlauge alkalisch, kocht 1 min, filtriert durch dasselbe Filter und wäscht mit 2%iger Natronlauge. Man bringt den Niederschlag mit heißem Wasser zurück in das ursprünglich Becherglas, löst in 10 ml Schwefelsäure (1:1), setzt 1 ml 30%ige Wasserstoffperoxydlösung und 0,2 g Oxalsäure zu, verdünnt auf etwa 50—75 ml und filtriert durch dasselbe Filter. Man verdünnt das Filtrat und die Waschflüssigkeiten auf 100 ml. Man mißt die optische Dichte der Lösung und berechnet den Titangehalt aus einer Eichkurve, die unter ähnlichen Bedingungen erhalten wurde (es ist wichtig, dieselbe Menge an Oxalsäure zuzusetzen).

[1] Anal. chim. Acta (Amsterdam) **21**, 511—514 (1959). Atomic Energy Establ. Trombay, Bombay (Indien). S. Eckhard

Einen Beitrag zur Frage der Minderbefunde bei der Schwefelbestimmung in Eisenwerkstoffen durch Verbrennung im Sauerstoffstrom gibt H. Green[1]. Seine Untersuchungen beziehen sich speziell auf *Gußeisen*, ausgehend von den Angaben von Smith, Backhouse und Woodward[2], die 89% des Schwefels wiederfanden und feststellten, daß 6% in der Schlacke zurückgehalten wurden, 4% sich als SO_3 in der Apparatur kondensierten und 1% als SO_3 nicht absorbiert wurde. Verff. kommen zu der Ansicht, daß weder Temperaturänderung bei der Verbrennung noch die Sauerstoffströmungsgeschwindigkeit in beträchtlichem Variationsbereich einen merklichen Einfluß auf die Ausbeute haben. Sie bestätigen die Auffassung früherer Autoren, daß die Weglänge von der Brennzone zum Absorptionsgefäß so kurz wie möglich gehalten werden muß. Den wesentlichen Einfluß räumt Green dem Flußmittel ein. Er verwendet Vanadiumpentoxyd. Bei ausreichender Flußmittelmenge (3 g V_2O_5 auf 1 g Probegut) wird der Transport von Eisenoxyden in die Apparatur unterdrückt und die Verbrennung so verlangsamt, daß kein vorübergehender Sauerstoffmangel durch zu rasche Verbrennung im Verbrennungsraum entsteht und damit wesentliche Fehlerquellen vermieden werden. Verf. betont selbst, daß mit den bekannten Mitteln die vollständige stöchiometrische Wiederfindung des Schwefels bei der Verbrennung der Eisenprobe im Sauerstoffstrom noch nicht erreicht wird.

[1] Metallurgia (Manchester) **60**, 229—232 (1959). — [2] J. appl. Chem. **4**, 75 (1954). S. Eckhard

Den Mangangehalt in Ferromangan bestimmen R. Přibil und M. Kopanica[1] chelatometrisch mit 0,05 m ÄDTA-Lösung und Thymolphthalexon (= 3,3-bis-[N,N-di(Carboxymethyl)aminomethyl]-thymolphthalein, Chemapol, Prag) als Indicator. Eisen wird mit Triäthanolamin in ammoniakalischem Medium maskiert. — *Arbeitsweise.* Etwa 250 mg der Legierung werden in konz. Salpetersäure gelöst und die Lösung nach Zugabe von konz. Salzsäure weitgehend eingedampft. Das Eindampfen (nicht bis zur Trockne) wird wiederholt. Nach dem Aufnehmen in

Wasser wird ohne Filtration der ausgeschiedenen Kieselsäure in einen 250 ml-Meßkolben übergeführt und zur Marke aufgefüllt. Ein 25 oder 50 ml-Anteil wird in einem 300 ml-Erlenmeyer-Kolben mit 5 ml 10%iger Hydroxylammoniumchloridlösung, 10 ml 20%iger Triäthanolaminlösung und 30—35 ml konz. Ammoniak versetzt und das Volumen mit Wasser auf etwa 150 ml gebracht. Man gibt genügend Indicatorgemisch (1 Teil + 100 Teile KNO_3) bis zur Blaufärbung zu und titriert mit 0,05 m ÄDTA-Lösung (1 ml = 2,746 mg Mn), gegen Ende langsam, bis auf farblos oder schwach rosa. Bei nach 2—3 min wiederkehrender Blau- (oder Violett)-färbung wird erneut bis zum bleibenden Farbumschlag titriert (1—2 Tr.). Die Ergebnisse sind gut, sofern der Mangangehalt über 40% liegt. Geringe Mengen Kupfer und Zink stören nicht, größere Mengen lassen sich mit 50 mg Kaliumcyanid maskieren. In einem weiteren aliquoten Anteil kann Kupfer mit Diäthyldithiocarbaminat photometrisch nach V. Šedivec und V. Vašák[2] bestimmt werden.

[1] Chemist-Analyst **48**, 35—36 (1959). Akad. Wiss., Prag (ČSR). — [2] Chem. Listy **44**, 105 (1950); Collect. czechoslov. chem. Commun. **15**, 260 (1950); vgl. diese Z. **134**, 205 (1951/52). E. Bankmann

Zur Spurenanreicherung mit nachfolgender spektrochemischer Bestimmung von Kobalt, Kupfer, Blei und Zink im Nickel hoher Reinheit verwenden D. M. Švarc und A. I. Granfel'd[1] die Reaktion mit Diantipyrylmethan[2]. — *Ausführung.* Die Nickeleinwaage von 5 g wird unter Erwärmen in 40 ml Salpetersäure 1:1 gelöst, die überschüssige Säure vertrieben, 10—12 ml Schwefelsäure (D 1,84) werden dazugegeben und bis zum Erscheinen weißer Nebel eingedampft. Nach dem Abkühlen gibt man 8—10 ml Wasser hinzu, rührt, erhitzt bis zur Entfernung der Säure, löst den Rückstand unter Erwärmen in 80 ml Wasser und führt die Lösung in einen 250 ml-Scheidetrichter über. Der Säuregehalt wird zwischen 0,5—2 n eingestellt. Man gibt 2—3 Tr. 0,01 n Kaliumpermanganatlösung, 10 ml 40%ige Ammoniumrhodanidlösung, 15 ml 2%ige Diantipyrylmethanlösung in 0,5 n Salzsäure zu und schüttelt 30 sec. Nach 30—40 min gibt man weitere 5 ml Diantipyrylmethanlösung hinzu und wiederholt das Schütteln. Weiter wird mit je 10 ml Chloroform der Niederschlag gelöst und wiederholt extrahiert, bis die Chloroformphase farblos bleibt. Der Extrakt wird auf dem Wasserbad zur Trockne eingedampft. Man gibt 2 ml salpetersaure Lösung von Nickelmetall (80 g/l) hinzu, dampft zur Trockne ein und glüht den Rückstand 40—60 min bei 700° C. Danach wird die übliche spektrochemische Analyse durchgeführt. Die Spurenkonzentration C_x in der Ausgangsprobe wird berechnet nach der Gleichung: $C_x\% = (C_1\% - C_2\%)\, m/M$; C_1 ist die Konzentration in der angereicherten Probe, C_2 = der mit den Reagentien ermittelte Blindwert, m = das Gewicht des zugegebenen Nickels, M = das Ausgangsgewicht der Probe. Die Empfindlichkeit der Methode beträgt $5 \cdot 10^{-6}$—$1 \cdot 10^{-5}$% (in 5 g Nickel). Die Übereinstimmung der nach diesem Verfahren ermittelten Werte mit Standardproben wurde festgestellt.

[1] Zavodskaja Laborat. **25**, 946—948 (1959) [Russisch]. Inst. „Gipronikel" (UdSSR). — [2] Živopiscev, V. P.: Ž. prikl. Chim. **26**, 335 (1953); Dokl. Akad. Nauk SSSR. **73**, 1193 (1950); vgl. diese Z. **134**, 118 (1951/52); **139**, 127 (1953).
Damjana Vukanović

Rhodium in Uran-Rhodium-Legierungen kann ohne vorherige Trennung bestimmt werden, wenn man nach R. D. Gardner und A. D. Hues[1] die Absorption bei 520 nm der roten Farbe der mit Zinn(II)-chlorid versetzten salzsauren Lösung mißt. Obwohl das Rhodiummaximum bei 475 nm liegt, wird die oben angegebene Wellenlänge benutzt, um die Störung durch das bei dieser Arbeitsweise teilweise mitreduzierte Uran(VI)-ion auf ein Minimum herabzudrücken. In

Gegenwart von jeweils 10 mg Uran und verschiedenen Mengen anderer Metallionen wurden 0,1 mg Rhodium bestimmt und gefunden, daß lediglich einige Platinmetalle, Gold, Kupfer und Molybdän Fehler von mehr als 1% verursachen, wenn sie in gleicher Konzentration wie Rhodium vorliegen. In 3 Std können 12—18 Bestimmungen durchgeführt werden. — *Arbeitsweise.* Eine gewogene Probemenge wird mit konz. Salzsäure und 30%igem Wasserstoffperoxyd auf einer Heizplatte vorsichtig gelöst und die Lösung in einem geeigneten Meßkolben soweit verdünnt, daß ein aliquoter Anteil von 5 ml oder weniger ungefähr 0,1 mg Rhodium enthält. Ein solcher Anteil wird in einen 10 ml-Meßkolben übergeführt, mit 1 ml Zinn(II)-chloridlösung (22,6 g $SnCl_2 \cdot 2H_2O$ in 21 ml 12 m Salzsäure gelöst und mit Wasser auf 100 ml aufgefüllt) und 2 ml 6 n Salzsäure versetzt, mit Wasser auf etwa 8 ml verdünnt, gut durchgerührt und dann 30 min in ein Dampfbad gegeben. Unter fließendem Wasser wird auf Raumtemperatur abgekühlt, 1 ml Zinn(II)-chloridlösung zugefügt und dann mit Wasser bis zur Marke aufgefüllt. Nach gutem Durchmischen wird 15 min stehen gelassen und dann gegen eine Blindlösung mit den Reagentien bei 520 nm gemessen. Die Eichkurve wird mit reinen Rhodiumlösungen unter Zugabe einer der Legierung entsprechenden Uranmenge unter gleichen Bedingungen wie oben aufgestellt.

[1] Analyt. Chemistry **31**, 1488—1489 (1959). Los Alamos Sci. Lab., Univ. Calif., N. M. (USA). H. Malissa

50 µg Aluminium in Mineralien lassen sich *spektralphotometrisch* neben dem 4fachen Überschuß an Be, Bi, Cd, Ce, Co, Cr, Cu, Dy, Fe, Ga, Mo, Ni, Pb, Ti, U, V, W, Y, Zn und Zr nach einer Methode von J. P. Riley und H. P. Williams[1] bestimmen. Die Verff. berichten in Fortsetzung früherer Arbeiten[2] über die Extraktion störender Elemente mit einer Lösung von 8-Hydroxychinaldin in Chloroform(I) bei p_H 10 und die anschließende Extraktion des Aluminiums bei p_H 4,5 mit 8-Hydroxychinolin in Chloroform(II) sowie die Photometrierung bei 410 nm zur Aluminiumbestimmung. Bei Gegenwart von *Titan* wird dieses mit I bei p_H 4 quantitativ entfernt. *Zirkonium* wird durch II nicht mitextrahiert, wenn vorher zur Maskierung Chinolizarin-3-sulfonsäure zugesetzt wird. *Uran* muß vor der Aluminiumextraktion als Acetatokomplex mit einem Anionenaustauscher entfernt werden. Im Original sind die einzelnen Arbeitsvorschriften genauestens beschrieben.

[1] Mikrochim. Acta (Wien) **1959**, 825—830. Univ. Liverpool (England). — [2] Riley, J. P.: Anal. chim. Acta (Amsterdam) **19**, 413 (1958); vgl. diese Z. **169**, 278 (1959). — Riley, J. P., u. H. P. Williams: Mikrochim. Acta (Wien) **1959**, 804; vgl. diese Z. **176**, 208 (1960). Klaus Brodersen

Über die Anwendung des Zugabeverfahrens[1] bei der spektralanalytischen Bestimmung von Indium und Germanium in Erzen berichten Ja. D. Rajchbaum und E. S. Kostjukova[2]. — *Arbeitsvorschriften.* Man bereitet ein Puffergemisch (Kohlepulver + $NaHCO_3$, 1:1), teilt es in 2 Teile und gibt in einen Teil eine Menge A (0,004—0,005%) des zu bestimmenden Elementes hinzu, wenn die Konzentration des Elementes im Analysenmaterial zwischen 0,001—0,01% liegt. Beide Teile des Puffergemisches werden mit der zu untersuchenden Probe vermischt (1:1). Eichproben beliebiger chemischer Zusammensetzung werden im gleichen Verhältnis mit dem reinen Puffergemisch verdünnt. Die Anregung erfolgt auf einer rotierenden Elektrode. Der aufgestellten Eichkurve werden zuerst der ungenaue Konzentrationswert x' und die Zugabemenge A' entnommen. Der korrigierte Konzentrationswert x wird nach der Gleichung $x = x' \cdot A/A'$ berechnet. Als Analysenlinien werden In 3039,36 und 3256,09 Å und Ge 2651,18 Å benutzt. Bei einer

Reihe verschiedener Grundsubstanzen beträgt der relative Fehler bei der Indiumbestimmung vor der Korrektion 27,6% und danach 8,8%. Bei der Germaniumbestimmung betragen diese Werte 85,3% und 7,08%.

[1] Fukushima, S., M. Shigemoto, I. Kato u. K. Otozai: Mikrochim. Acta (Wien) **1957**, 35. — Fukushima, S., K. Takahashi, S. Terasaka u. K. Otozai: Mikrochim. Acta (Wien) **1957**, 183; vgl. diese Z. **158**, 201, 202 (1957). — [2] Zavodskaja Laborat. **25**, 961—963 (1959) [Russisch]. Staatl. Inst. selt. Metalle, Irkutsk. (UdSSR). Damjana Vukanović

Neue Mikromethoden zur Bestimmung von Siliciumdioxyd, Phosphorpentoxyd, Titandioxyd, Aluminiumoxyd, Manganoxyd, Calcium- und Magnesiumoxyd sowie Natrium- und Kaliumoxyd in Mineralien beschreiben J. P. Riley und H. P. Williams[1] in Fortsetzung früherer Arbeiten[2]. Mit nur 5 mg Einwaage, die im Silbertiegel in einer Natriumhydroxydschmelze aufgeschlossen werden (10 min 750 bis 800° C), läßt sich das *Silicium* spektralphotometrisch durch Photometrierung bei 812 nm als reduzierte Silicomolybdänsäure bestimmen. *Titan* wird ebenfalls spektralphotometrisch mit 9-Phenyl-2,3,7-trihydroxyfluoron bestimmt, wobei Fe^{3+} mit Ascorbinsäure reduziert und Zr^{4+} mit ÄDTA maskiert werden müssen. *Aluminium* läßt sich auch spektralphotometrisch mit Oxin im Chloroformextrakt aus wäßriger Lösung von p_H 4,9—5,0 bestimmen[3]. Auch das *Eisen* wird spektralphotometrisch mit 4,7-Diphenyl-1,10-phenanthrolin als Reagens bei p_H 4 nach Reduktion mit Hydroxylaminchlorhydrat ermittelt. *Calcium-* und *Magnesium* werden nach Extraktion störender Elemente als Oxinate in Chloroform bei p_H 5 durch Titration mit ÄDTA bestimmt. Der Gehalt an *Mangan* ergibt sich aus einer spektralphotometrischen Bestimmung des bei p_H 10 gebildeten Komplexes mit Formaldehydoxim durch Photometrierung bei 454 nm. *Natrium* und *Kalium* werden nach Entfernung anderer Elemente mit einem Anionenaustauscher in Citratform flammenphotometrisch nach Zusatz von Ammoniumsulfat bestimmt. Der *Phosphor*gehalt wird schließlich noch mit der Molybdänblaumethode photometrisch ermittelt. Im Original sind alle Methoden eingehend beschrieben.

[1] Mikrochim. Acta (Wien) **1959**, 804—824. Univ. Liverpool (England). — [2] Riley, J. P., u. H. P. Williams: Mikrochim. Acta (Wien) **1959**, 516, 525. — Riley, J. P.: Anal. chim. Acta (Amsterdam) **19**, 413 (1958); vgl. diese Z. **169**, 278 (1959). — [3] Riley, J. P., u. H. P. Williams: Mikrochim. Acta (Wien) **1959**, 825; vgl. diese Z. **176**, 207 (1960). Klaus Brodersen

Photocolorimetrische Siliciumbestimmung in Zirkon. S. V. Elinson und L. I. Pobedina[1] photometrieren Lösungen von Silicium-Molybdän-Heteropolysäuren, in denen durch Ascorbinsäure eine Reduktion zur blauen Komplexverbindung hervorgerufen wird[2]. Bei einer Zugabe von 2 ml 1%iger Ascorbinsäurelösung zu 50 ml Analysenlösung erhält man eine Maximalfärbung nach 30 min, welche 6 Std beständig ist. Die Analysenlösung enthält 35 ml 0,1 n Schwefelsäure und 3 ml 5%ige Ammoniummolybdatlösung in 50 ml. Nach 10 min gibt man 4 ml (oder mehr) 8 n Schwefelsäure zu. Sie wird innerhalb 30 min in einer 3 cm-Küvette unter Verwendung eines gelben Filters photometriert. Das Beersche Gesetz ist im Bereich 0—50 μg Si erfüllt. Zirkonium stört nicht, solange die Analysenlösung genügend sauer ist (Hydrolyse). Die Anwesenheit von Eisen (1—10 mg) erfordert erhöhte Säure- und Ammoniummolybdatzugaben. Wolfram stört die Bestimmung nicht, der Einfluß von Phosphationen wird durch gesteigerte Schwefelsäurekonzentration (auf 2,4 n) aufgehoben. Die Meßlösung soll 2—40 μg Si enthalten, dabei beträgt der mittlere quadratische Fehler $\pm$ 7,2 rel.-%. — *Zur Bestimmung von hundertstel bis zehntel Prozenten Silicium in Zirkonschmelzen* schließt man 0,2 g

Probe mit Kaliumpyrosulfat auf, löst in 40—50 ml heißem Wasser, die 1,5 ml konz. Schwefelsäure enthalten, und füllt im 100 ml-Meßkolben mit Wasser zur Marke auf. Bei Gehalten von mehr als 0,3% Si kann SiO_2 ungelöst bleiben; man schließt dann den Rückstand nochmals mit $KNaCO_3$ auf, löst in Wasser, neutralisiert mit Schwefelsäure, vereinigt mit der ersten Lösung und füllt jetzt erst auf. Die Siliciumbestimmung erfolgt in Abnahmen von 10 ml wie beschrieben.

[1] Zavodskaja Laborat. **25**, 909—911 (1959) [Russisch]. — [2] Cap, M. L.: Zavodskaja Laborat. **21**, 10 (1955). O. Gautsch

Die photometrische Thoriumbestimmung in Zirkon mit dem neuen Reagens Arsenazo III (1,8-Dihydroxynaphthalin-3,6-disulfonsäure-2,7-bis-[azo-1]benzol-2-arsonsäure)[1] beschreiben V. F. Lukjanov, S. B. Savvin und I. V. Nikol'skaja[2]. Thorium bildet mit Arsenazo(III) eine grün gefärbte Verbindung. Bei Reagensüberschuß tritt eine blauviolette Färbung auf, bei zu hohen Thoriumkonzentrationen fällt ein Niederschlag aus. In 6 n Salzsäure färben sich auch Zr, Hf, U^{IV} und andere an. Bei 1—35 μg Th/50 ml bleibt die Färbung 30 min beständig. Zirkonium und Titan werden durch Oxalsäure maskiert. — *Ausführung.* 100 mg Probe werden mit der fünffachen Menge Kaliumbifluorid bei 800—900° C geschmolzen. Die Schmelze wird mit 10 ml Schwefelsäure (1:1) und anschließend mit 5 ml Schwefelsäure (1:1) ausgelaugt, die Lösung wird eingedampft, der Rückstand im Muffelofen erhitzt. Den Rest löst man in 25 ml 6 n Salzsäure und füllt mit Wasser auf 50 ml auf. Ein passender aliquoter Teil wird im 50 ml-Meßkolben mit 3 n Salzsäure auf 20 ml verdünnt und zur Reduktion von Eisen(III) mit einigen Kristallen Ascorbinsäure versetzt. Man fügt dann 6 ml 6 n Salzsäure, 20 ml 4%ige Oxalsäurelösung und 2 ml Reagenslösung (1 g Arsenazo III + 5 ml 6 n Salzsäure mit Wasser auf 100 m ergänzt) zu, füllt mit 6 n Salzsäure zur Marke auf und mißt die optische Dichte mit Rotfilter. Zur Aufstellung der Eichkurve dienen Lösungen, die 1,0—33,0 μg Th und 10 mg Zr enthalten. Das Verfahren dauert 3 Std und eignet sich zur Bestimmung von mehr als 0,005% Th.

[1] Siehe S. B. Savvin: Dokl. Akad. Nauk SSSR **127**, 1231 (1959); vgl. diese Z. **174**, 439 (1960). — [2] Zavodskaja Laborat. **25**, 1155—1157 (1959) [Russisch].
O. Gautsch

Magnetit, Pyrit und Chalkopyrit in Sulfiderzen können S. Hirano und H. Sasuga[1] durch Röntgenstrukturanalyse nebeneinander bestimmen. Es wird die Kα-Strahlung von Co und Natriumchlorid als innerer Standard benutzt. Bei Magnetit und Chalkopyrit genügt eine Zerkleinerung auf einige Mikron Korngröße. Für Pyrit sind die Werte nur gut reproduzierbar, wenn die Substanz auf 10^{-1} μ pulverisiert ist. Die erhaltenen Werte stimmen mit chemischen Analysen gut überein und sind innerhalb $\pm$ 5% reproduzierbar.

[1] Jap. Analyst **8**, 495—500 (1959) [Japanisch]. (Nach engl. Zus.fass. ref.) Univ. Tokyo (Japan). Margot Zimmermann

Die Bestimmung von Aluminium und Eisen in Cr-Klinkern und Cr-Erzen, die große Mengen Chrom enthalten, führen Y. Endo und H. Takagi[1] mit Hilfe von Oxin, ÄDTA und CDTA (Cyclohexandiaminotetraessigsäure) durch. — *Arbeitsweise.* Die Probe (0,2 g) wird mit Kaliumhydrogensulfat aufgeschlossen, mit Salpetersäure oxydiert und mit einem Überschuß an 0,1 m ÄDTA-Lösung versetzt, der der anwesenden Menge Fe^{3+}, Al^{3+}, Cr^{3+}, Ca^{2+} und Mg^{2+} entspricht (etwa 2—3 ml). Dann wird die Lösung auf p_H 4—6 gebracht, zur Bildung der Komplexe 2 min gekocht, anschließend mit 5%iger Oxinlösung versetzt, mit Ammoniak alkalisch gemacht und auf 80° C erhitzt. Dann läßt man 10 min stehen. Man filtriert ab und löst den Niederschlag (Fe^{3+} und Al^{3+}) in verd. Salzsäure. Bei p_H 2—2,2 titriert man

nun mit 0,05 m ÄDTA-Lösung das Eisen, wobei das freigemachte Oxin als Indicator dient. Die Lösung wird zum Sieden erhitzt und das Aluminium dann bei p_H 2—2,2 mit 0,05 m CDTA-Lösung gegen 0,1%ige Cu-PAN-Lösung (Cu^{2+}-α-Pyridyl-β-azonaphthol) als Indicator titriert.

[1] Jap. Analyst 8, 491—495 (1959) [Japanisch]. (Nach engl. Zus.fass. ref.) Kawasaki Steel Corp., Fukiai Plant, Wakinohama, Kobe (Japan).

MARGOT ZIMMERMANN

Zur Fluoridbestimmung in Kryolith und in Elektrolyten der Aluminiumherstellung setzen H. P. SILVERMAN und F. J. BOWEN[1] der Probe bei der Pyrohydrolyse α-Aluminiumoxyd zu und erreichen damit, daß der gesamte Fluoridgehalt der Probe im Wasserdampfdestillat als Flußsäure acidimetrisch bestimmbar ist. — *Ausführung.* Man pulvert die Probe auf 100 mesh, mischt 0,25 g Probe mit 0,75 g α-Aluminiumoxyd, unter- und überschichtet diese Probemischung mit je 0,5 g α-Al_2O_3 im Aufschlußofen, bringt die Ofentemperatur auf 1200° ± 50° C, leitet Wasserdampf durch die Probemischung so, daß 8 ml ± 1 ml Destillat je Minute anfallen, fängt das Destillat in einem Polyäthylengefäß in 50 ml kohlensäurefreiem Wasser auf, entfernt nach 10 min das Auffanggefäß und titriert die Flußsäure mit 0,2 n Natronlauge mit 4 Tr. 1%iger Phenolphthaleinlösung als Indicator. — Die Konstruktion des Apparates ist im Original genau beschrieben.

[1] Analyt. Chemistry **31**, 1960—1965 (1959). Kaiser Aluminium and Chem. Corp., Permanente, Calif. (USA).

KLAUS BRODERSEN

Bei der alkalimetrischen Bestimmung von freier Schwefelsäure in Kupferplattierungsbädern eliminieren M. R. VERMA, V. M. BHUCHAR, S. K. MATHUR und S. S. SHARMA[1] die Störung durch das Kupfer durch Komplexbildung mit Kaliumoxalat. Der Endpunkt der Titration ist nun mühelos entweder durch potentiometrische Anzeige oder visuell mit Phenolrot bzw. mit o-Cumarinsäure oder Natrium-2-naphthol-3,6-disulfonat als Fluorescenzindicator zu erkennen. — *Durchführung.* Zu einem aliquoten Anteil der Lösung mit etwa 2 mval Säure gibt man 5 ml 1 m Kaliumoxalatlösung (gegen Phenolrot neutralisiert) und eine geeignete Menge 0,1%ige Indicatorlösung (2 Tr. Phenolrot, Na-Salz; 10 Tr. o-Cumarinsäure in Wasser-Äthylalkohol [1:1]; 10 Tr. Natrium-2-naphthol-3,6-disulfonat). Man titriert mit 0,1 n Natronlauge, bei Anwendung des Fluorescenzindicators im UV-Licht. Die Ergebnisse sind gut.

[1] Chemist-Analyst **48**, 41 (1959). Nat. Phys. Lab., Neu-Delhi (Indien).

E. BANKMANN

Für die komplexometrische Titration des Gesamtzink- und des Zinkoxydgehaltes von Lithopone geben A. SCHALLER und E. MIHALOVICS[1] *Arbeitsvorschriften.* 0,4 g Lithopone (bei mehr als 30% ZnS nur 0,2 g) versetzt man mit 25 ml 4 n Salzsäure, kocht bis kein H_2S mehr entweicht, fügt dann einige Tropfen konz. Salpetersäure hinzu und kocht noch einige Minuten weiter. Man verdünnt mit 100 ml Wasser, gibt 5 ml 2 n Schwefelsäure hinzu und füllt im 250 ml-Meßkolben zur Marke auf. — Soll auch der Gehalt an $BaSO_4$ bestimmt werden, so wird vor dem Auffüllen nach DIN 55910 verfahren. — *Zink.* 50 ml der Lösung bzw. Aufschlämmung versetzt man mit 4 n Natronlauge bis Methylrot eben nach Gelb umschlägt, ferner mit 2 ml Pufferlösung (70 g NH_4Cl + 570 ml konz. Ammoniak im Liter) und Indicatorpulver (0,5 g Eriochromschwarz T + 50 g NaCl), erwärmt auf 40° C und titriert mit 0,01 m ÄDTA-Lösung bis die letzte Rotfärbung verschwunden ist. Bei Gegenwart von viel Methylrot schlägt der Indicator nicht nach Blau sondern nach Grün um. Zur Tarnung von Fremdionen kann vor der Titration noch 1 g NH_4F zugegeben werden. — Das Verfahren ist der Normvorschrift mit Diphenylamin über-

legen. Die Fehler betragen 0,5%. — Zur *Bestimmung des ZnO-Gehalts* (meist unter 0,5%) versetzt man 0,25—1 g Lithopone mit 10 ml der Pufferlösung und 10 ml Wasser, läßt 30 min unter gelegentlichem Umrühren stehen, zentrifugiert dann 5 min und filtriert die überstehende Lösung durch ein Blaubandfilter. Der Rückstand wird nochmals ebenso behandelt. In den vereinigten Lösungen mit einem Volumen von etwa 50 ml kann Zink direkt mit 0,01 m ÄDTA-Lösung titriert werden, wobei allerdings auch geringe Mengen anderer Ionen, hauptsächlich Erdalkalien, mit erfaßt werden. Will man den wahren ZnO-Gehalt haben, so maskiert man das Zink durch KCN, gibt 0,5 g NH_4Cl hinzu und titriert nun die Fremdionen mit ÄDTA.

[1] Österr. Chemiker-Ztg. **60**, 338—344 (1959). Bundeslehr- und Versuchsanstalt für chem. Ind., Wien (Österreich). G. Denk

Die photometrische Bestimmung von Eisen in Bodenextrakten mit Catechin führt A. N. Smith[1] durch. Etwaige Störungen durch Aluminium und Säuren werden durch folgende *Arbeitsvorschrift* vermieden: Die saure Probelösung mit bis zu 1,5 mg Eisen wird in einem 100 ml-Meßkolben auf etwa 50 ml verdünnt. Man neutralisiert die Lösung gegen p-Nitrophenol als Indicator mit 8%iger Natronlauge, bis die Farbe nach Gelb umschlägt, und gibt noch 2 Tr. im Überschuß zu. Dann wird mit 20 ml 2%iger Catechinlösung versetzt und die Lösung 15 min sich selbst überlassen. Die entstehende Färbung soll kirschrot sein; hat sie einen blauen Stich, so gibt man noch 1 Tr. Natronlauge hinzu. Dann versetzt man mit 10 ml Pufferlösung (975 ml 0,066 m KH_2PO_4-Lösung + 25 ml 0,066 m Na_2HPO_4-Lösung), verdünnt sofort zur Marke und läßt 1 Std stehen. Danach mißt man die Extinktion bei 580 nm. — Das Beersche Gesetz ist für 0—15 ppm Eisen gültig. Vanadium stört die Bestimmung auch in geringen Mengen, während 5 ppm Aluminium, 0,4 ppm Cu, Ni, Co, Mn und W keinen Einfluß haben.

[1] Analyst **84**, 516 (1959). Res. Inst. Kericho, Kenya Colony (Ost-Afrika).
Margot Zimmermann

4. Analyse von biologischem Material

Über die Überlegenheit von Alkohol über wäßrige Fixierung beim histochemischen Nachweis von Calcium berichtet S. Renaud[1]. Um Kalkablagerungen im Herzen (von Ratten) nachzuweisen, wurden alle Herzen in der Mitte durchgeschnitten. Die eine Hälfte wird in Formalin in 80%igem Alkohol (p_H 6,8) oder Formalin in 50%igem Alkohol (p_H 7,0), die andere in wäßrigem Formalin (p_H 7,5) fixiert. Wie Mikrophotogramme ausweisen, sind die ersten Anfänge der Calciumablagerung nur bei Fixierung mit 80% Alkoholgehalt nachweisbar, während bei wäßrigem Fixierungsmittel erst makroskopisch schon erkennbare Einlagerungen sichtbar werden. Der histochemische Calciumnachweis erfolgt am besten nach von Kóssa.

[1] Stain Technol. **34**, 267—271 (1959). Univ. Montreal (Canada).
E. Müller, Würzburg

Zwei Varianten zur Bestimmung von Thallium in biologischem Material teilt A. Dyfverman[1] mit. Das Prinzip beruht auf der spektrophotometrischen Auswertung des Thalliumdithizonats nach feuchter Veraschung und Beseitigung störender Schwermetalle. Die eine Methode ist etwas schneller, aber mehr als 1 mg Quecksilber oder mehr als 10 mg Cadmium, Wismut oder Indium stören. Die zweite ist empfindlicher und spezifischer, es lassen sich noch 10 μg Thallium in 25 g Leber

bestimmen, während 100 mg Quecksilber oder Indium gar nicht und 100 mg Wismut oder 50 mg Cadmium nur unwesentlich stören. Die sehr umfangreichen, genau einzuhaltenden Vorschriften möge man im Original einsehen.

[1] Anal. chim. Acta (Amsterdam) **21**, 357—365 (1959). Governement Lab. Forensic Chemistry, Stockholm (Schweden). E. Müller, Würzburg

Die Mikrobestimmung von Spuren Blei im Blut und anderen biologischen Flüssigkeiten führen W. Haerdi und D. Monnier[1] auf polarographischem Wege durch, nach Zerstörung der organischen Substanz mit Salpetersäure und Extraktion des Bleis mit Dithizon. 1 μg Pb läßt sich mit einem Fehler von $\pm 10\%$ ermitteln. — Für die an sich bekannten einzelnen Stufen und für die Darstellung der Lösungen werden eingehende *Arbeitsvorschriften* gegeben: 3—5 g der sachgemäß entnommenen Blutprobe erwärmt man auf 100° C, läßt abkühlen, gibt 2 ml konz. Salpetersäure hinzu, erwärmt, wenn die Gasentwicklung nachläßt, im bedeckten Becherglas langsam auf 100° C und weiter auf 120° C, wobei man, wenn nötig, noch einmal 0,5 ml konz. Salpetersäure zugibt. Die Temperatur von 120° C darf in der 1. Std nicht überschritten werden. Wenn die Lösung klar geworden ist (1—3 Std), steigert man die Temperatur, bringt zur Trockne, nimmt mit 0,1—0,2 ml konz. Salpetersäure auf und wiederholt das Eindampfen mit Salpetersäure bis der Rückstand weiß geworden ist. Man erhitzt auf 200—250° C und dampft nach dem Abkühlen mit 1 ml Perhydrol und 0,2 ml konz. Salpetersäure ein. Dann löst man den Rückstand unter gelindem Erwärmen mit 2 ml konz. Salpetersäure, verdünnt mit 10 ml Wasser, versetzt die klare Lösung mit 1 ml 20%iger Hydroxylammoniumchloridlösung, 10 ml 25%iger Natriumcitratlösung, 0,5 ml 0,1%iger Lösung von Phenolrot, konz. Ammoniak (hergestellt aus gasförmigem NH_3) bis zum Umschlag nach Orange (p_H 8—9) und 5 ml 10%iger KCN-Lösung und schüttelt die Lösung 1—2 min so oft mit je 2 ml einer 0,002%igen Lösung von Dithizon in Chloroform aus bis der Chloroformextrakt grün bleibt. Die vereinigten Chloroformauszüge wäscht man einmal mit 10 ml und zweimal mit 5 ml Wasser. Die Chloroformschicht schüttelt man nach dem Abtrennen 1—2 min mit 5 ml 1%iger Salpetersäure und wäscht die wäßrige Phase, die nun das Blei enthält, mit 5 ml Chloroform. Man dampft zur Trockne ein, nimmt den Rückstand mit 0,5 ml Cd-haltiger Weinsäurelösung (siehe unten) auf, bringt die Lösung in die polarographische Mikroküvette (0,3—1 ml) und leitet 10 min Stickstoff hindurch. Die polarographische Messung führt man zwischen — 0,3 und — 0,9 Volt durch. Dabei treten 2 Stufen auf, eine bei — 0,54 Volt durch die Reduktion des Bleis und eine zweite bei — 0,72 Volt durch das Cadmium. — Anschließend führt man eine Bestimmung mit 6—10 g Blut aus, ferner eine mit 3—5 g, der man 4 μg Pb als Bleinitratlösung zusetzt (0,03662 g Pb/100 ml + 3 Tr. konz. Salpetersäure). Außerdem werden mit den Reagentien 2 Blindbestimmungen durchgeführt, von denen man die einen ebenfalls 4 μg Pb hinzufügt. — Das *verwendete Wasser* destilliert man zweimal aus Pyrexgefäßen und bewahrt es in Polyäthylenflaschen auf. — Die *Reagentien* werden von Blei befreit, indem man sie in schwach ammoniakalischer Lösung mit 5 ml Dithizon-Chloroform (40 mg/l) so oft ausschüttelt, bis der Extrakt grün bleibt und dann mit Chloroform wäscht. — *Weinsäure-Cadmiumnitratlösung.* Man löst 10 g Weinsäure in 50 ml Wasser, gibt 10 ml 0,1 n Salpetersäure und 5 ml Cadmiumnitratlösung (0,1 mg Cd/ml) hinzu und verdünnt im Meßkolben auf 100 ml. — Die *Geräte* werden zunächst mit warmer Salpetersäure (1:1), dann mit Wasser und 0,01 n Ammoniak gespült. Durch Zugabe von 0,5 ml 0,002%iger Dithizonlösung kann man erkennen, ob noch Spuren von Schwermetallen anhaften.

[1] Mitt. Gebiete Lebensmittelunters. Hyg. (Bern) **50**, 243—257 (1959). Univ. Genf (Schweiz). G. Denk

Zur photometrischen Phosphorbestimmung in Serum verwenden W. Boguth und V. Horn[1] die Vanadat-Molybdatmethode. Mikrogramm-Mengen Phosphor können mit einem mittleren Fehler von 1,4% bestimmt werden. — *Arbeitsvorschrift.* 0,5 ml Serum versetzt man in einem 50 ml-Kjeldahl-Kolben mit 1—2 ml Wasser, fügt anschließend 1 ml Magnesiumnitratlösung zu [50 g $Mg(NO_3)_2$ + 30 ml konz. Salpetersäure + Wasser auf 100 ml] und erhitzt langsam, bis man einen rein weißen Rückstand erhält. Notfalls versetzt man mit 2 ml verd. Salpetersäure (1:2) und schließt nochmals auf. Nach dem Abkühlen befeuchtet man die Asche mit Wasser und nimmt mit 3 ml verd. Salpetersäure (1:2) auf. Die Lösung muß farblos sein, andernfalls muß der Aufschluß noch einmal wiederholt werden. Nun kocht man die Lösung kurz auf, spült in ein 25 ml-Meßkölbchen, gibt 0,3 ml NaF-Lösung (2,21 g NaF auf 100 ml Wasser) sowie 7,5 ml Vanadatgemisch (Salpetersäure [1:2] + Vanadatlösung [siehe unten] + Molybdatlösung [siehe unten] im Verhältnis 1:1:1) hinzu und füllt bis zur Marke auf. Nach 1 Std wird im Spektralphotometer (Elko II, Filter S 45, Schichtdicke 5 cm) gegen eine Blindlösung gemessen, die in genau gleicher Weise angesetzt worden ist. Extinktion und Phosphorkonzentration sind einander fast proportional; bei genauen Messungen ist eine Eichkurve aufzunehmen. — *Vanadatlösung.* 2,5 g Ammoniumvanadat löst man in etwa 500 ml siedendem Wasser, versetzt nach dem Erkalten mit 20 ml konz. Salpetersäure und füllt mit Wasser zum Liter auf. — *Molybdatlösung.* 50 g Ammoniummolybdat löst man mit etwa 800 ml Wasser bei ~ 50° C und füllt nach dem Abkühlen zum Liter auf.

[1] Biochem. Z. **332**, 74—76 (1959). Univ. Gießen. R. Hönigschmid-Grossich

Die Bestimmung von Chlor, Brom und Jod in biologischem Material durch Aktivierungsanalyse führt H. J. M. Bowen[1] durch. Untersucht werden *Tomatensamen* (66,7 μg Cl/g, 1,28 Br, 0,376 J) und *menschliches Blut* (2730 μg Cl/g, 2,75 Br, 0,0419 J). Die Bestimmungsgrenze liegt bei 10^{-8} g Cl, 10^{-9} g Br und 10^{-10} g J. — *Arbeitsweise.* Die zu untersuchenden Blut- oder Samenproben werden in Kunststoffbehältern eingewogen, verschlossen und zusammen mit Standardproben (10 μg Chlorid, 0,2 Bromid oder 1-Jodid als Ammoniumsalze) im Neutronenstrom (10^{12} Neutronen/cm²/sec) bestrahlt. Die Aktivierungszeit beträgt 30 min für Cl und J, 4 Std für Br. Die aktivierte Probe (0,05 g, bzw. 0,05 bzw. 0,5 g Samen oder 0,02, bzw. 0,05 bzw. 1 g Blut für Chlor, Brom bzw. Jod) wird in einen Rundkolben übergeführt, der 10 mg Chlorid, bzw. 20 mg Bromid oder 20 mg Jodid (Ammoniumsalze) als Trägersubstanz, sowie 1 ml 90%ige Phosphorsäure und 1 ml 16 n Salpetersäure enthält. Man destilliert das Gemisch 5 min bei 150° C im gelinden Luftstrom und fängt das Destillat in 10 ml 5%iger Natronlauge auf, die sich in einem Scheidetrichter befindet. *Zur Chlorbestimmung* müssen Brom und Jod entfernt werden. Man setzt dem Destillat 2 Tr. 5%ige Ammoniumjodidlösung und 5 Tr. 1%ige Natriumnitritlösung zu und säuert mit 5 n Salpetersäure an. Man extrahiert 3mal mit je 10 ml Tetrachlorkohlenstoff und verwirft die Lösungsmittelschichten, die das störende Jod enthalten. Dann gibt man 2 Tr. 5%ige Ammoniumbromidlösung zu und tropft 2%ige Kaliumpermanganatlösung bis zur gerade sichtbaren Rotfärbung ein. Man extrahiert wieder 3mal mit je 10 ml Tetrachlorkohlenstoff und verwirft die Lösungsmittelschicht. Die wäßrige Schicht wird in einem Zentrifugenglas alkalisch gemacht, mit 5 Tr. 10%iger Eisen(III)-nitratlösung versetzt und das ausgefallene Eisenhydroxyd abzentrifugiert. Die klare überstehende Lösung wird in einem anderen Zentrifugenglas mit Salpetersäure angesäuert und das Chlorid mit 3 ml 4%iger Silbernitratlösung gefällt. Der Niederschlag wird abzentrifugiert, 2mal mit Wasser, dann mit Aceton gewaschen und die Aktivität in einem Geiger-Zähler gemessen. Die Messung wird nach 35 min nochmal wiederholt. Aus dem Gewicht des Niederschlages und der Aktivität, bezogen auf den Standard, ergibt sich

die Chlormenge. — *Zur Brombestimmung* wird das angesäuerte Destillat tropfenweise bis zur gerade auftretenden Rotfärbung mit Kaliumpermanganatlösung versetzt und 3mal mit je 10 ml Tetrachlorkohlenstoff extrahiert. Die vereinigten Tetra-Extrakte werden in einem Scheidetrichter mit 10 ml 0,5%iger Natronlauge bis zum Verschwinden der Gelbfärbung geschüttelt und die wäßrige Schicht in einem 50 ml-Zentrifugenglas alkalisch gemacht, mit 5 Tr. 10%iger Eisen(III)-nitratlösung versetzt und nach Entfernung des Eisenhydroxyds das Brom ebenso als Silbersalz gefällt, wie das Chlor. Die Aktivität soll erst 6 Std nach der Bestrahlung gemessen werden. — *Zur Bestimmung des Jods* versetzt man das angesäuerte Destillat mit Ammoniumchlorid- und -bromid und extrahiert das Jod durch Ausschütteln mit Natriumnitritlösung und Tetrachlorkohlenstoff. Die Lösungsmittelschicht wird mit 10 ml 0,5%iger Natronlauge reextrahiert. Extraktion und Reextraktion werden bei Proben mit hohem Jodgehalt 2mal, bei solchen mit hohem Chlorgehalt 3mal ausgeführt. Die wäßrig-alkalische Schicht wird dann nacheinander mit 2 Tr. 5%iger Ammoniumchloridlösung 1 ml Ammoniak (D 0,88) und 3 ml 4%iger Silbernitratlösung versetzt, der Niederschlag abzentrifugiert und mit 2 n Salpetersäure, 2mal mit Wasser und mit Aceton gewaschen. Man mißt die Aktivität und wiederholt die Messung nach 25 min. Die Genauigkeit der Methode beträgt $\pm$ 5%.

[1] Biochemic. J. **73**, 381—384 (1959). Wantage Radiation Labor, Grove, Berks. (England). URSULA BAUMANN

Eine Methode für Routinemikrobestimmungen von Eisen in Hämoglobin gibt J. FISCHL[1] an. Sie beruht auf der Thiocyanatreaktion, und es lassen sich Unterschiede von 0,3—0,5 g Hämoglobin/100 ml nachweisen. — *Ausführung.* Zu 5 Tr. Wasser in einem 15 ml-Zentrifugenglas pipettiert man 0,02 ml Blut, 0,3 ml konz. Schwefelsäure und 0,5 ml gesätt. Kaliumpersulfatlösung. Nach Abkühlen setzt man 5 ml Reagenslösung (siehe unten) hinzu, schüttelt sofort kräftig und zentrifugiert 10 min mit hoher Geschwindigkeit. Vom klaren gefärbten Überstand pipettiert man in die Küvette und mißt gegen Isobutylalkohol (Wellenlänge oder Filter nicht angegeben, Ref.). Bei jeder Bestimmung laufen ein Blindansatz, der nur die Reagentien enthält, und eine Standardbestimmung mit 0,1 ml Eisenstandardlösung (10 μg Eisen, siehe unten) mit. Die Küvette und die Pipette, mit der man hineinpipettiert, müssen wasserfrei sein, weil sonst Emulgierung eintritt. Ist das trotzdem der Fall, gibt man zur Klärung einen Tropfen Propylenglykol hinzu. Berechnung: $[50/(S - B)] \cdot (U - B)$ = Milligramm Eisen/100 ml Probe; $[14{,}7/(S - B)] \cdot (U - B)$ = Gramm Hämoglobin/100 ml. Darin sind S = Standardablesung, B = Blindwert, U = Wert von Unbekannt. — *Reagenslösung.* Man löst 30 g Kaliumthiocyanat in 100 ml Wasser und gibt 4 ml Aceton und 500 ml Isobutylalkohol zu. — *Eisenstandardlösung.* Man löst 0,8635 g $FeNH_4(SO_4)_2 \cdot 12\ H_2O$ in möglichst wenig Wasser, gibt 2 ml konz. Schwefelsäure zu, läßt abkühlen und füllt mit Wasser auf 1000 ml auf.

[1] Clin. chim. Acta (Amsterdam) **4**, 686—690 (1959). „Arsaf Harofe" Government Hosp., Zrifin (Israel). E. MÜLLER, Würzburg

Die papierchromatographische Analyse langkettiger Fettsäuren des menschlichen Serums führen W. H. HAUSS und G. KRICKAU[1] nach der Methode von H. P. KAUFMANN und Mitarb.[2] aus. Die prozentuale Verteilung nach der Kettenlänge in Normalseren sowie in lipämischen und Arteriosklerotiker-Seren ist angegeben. Diagnostische Schlüsse sind aus den Versuchsergebnissen noch nicht zu ziehen.

[1] Fette u. Seifen **61**, 1059—1064 (1959). Med. Klinik und Poliklinik Univ. Münster. — [2] KAUFMANN, H. P., u. W. NITSCH: Fette u. Seifen **56**, 154 (1954); vgl. diese Z. **146**, 115 (1955). — KAUFMANN, H. P., u. A. KARABATUR: Nahrung **2**, 61

(1958). — Kaufmann, H. P., u. D. K. Chowdhury: Chem. Ber. **91**, 2117 (1958). — Kaufmann, H. P., u. H. Schnurbusch: Fette u. Seifen **60**, 1046 (1958); vgl. diese Z. **169**, 452 (1959). — Kaufmann, H. P., u. E. Mohr: Fette u. Seifen **60**, 165 (1958); vgl. diese Z. **168**, 438 (1959). Ursula Baumann

Über die Analyse der Serumphosphatide durch Chromatographie und Infrarotspektrophotometrie berichten G. J. Nelson und N. K. Freeman[1]. Zur Extraktion der Fettstoffe benutzen Verff. eine Modifikation der Methode von W. M. Sperry und F. C. Brand[2]. Die durch Ausschütteln gereinigte organische Phase engt man im Vakuum ein, bringt im Vakuum-Exsiccator zur Trockne und wägt. Den mit Methylenchlorid aufgenommenen Rückstand gibt man auf eine Säule aus Kieselsäure + Celite (2:1) und eluiert nacheinander mit Methylenchlorid, Aceton, 35% Methanol + 65% Methylenchlorid und mit 95% Methanol + 5% Wasser. Mit den ersten beiden Lösungsmitteln werden keine Phosphatide eluiert, und bei den anderen kommt es zur Überlagerung. In einer Tabelle sind diese Verhältnisse aufgeführt. Die Unterscheidung und Bestimmung gelingt durch Vergleich mit Infrarotstandardkurven der in Schwefelkohlenstoff oder Chloroform gelösten Testphosphatide. Diese Standardkurven müssen für jedes benutzte Instrument neu bestimmt werden. Der Fehler beträgt für *Lecithin* und *Sphingomyelin* etwa 10%. Die Versuchsanordnungen sind genau beschrieben, mit Kurven und Tabellen belegt und werden diskutiert.

[1] J. biol. Chemistry **234**, 1375—1380 (1959). Univ. Berkeley, Calif. (USA). — [2] J. biol. Chemistry **213**, 69 (1955); vgl. diese Z. **151**, 223 (1956).
E. Müller, Würzburg

Aminosäuren. *Die papierchromatographische Bestimmung von Aminosäuren* nach der *densitometrischen Methode* verbesserten T. Borkowski und I. Madecka-Borkowska[1], indem sie die mit Ninhydrin gefärbten Flecken statt über die Komplexbildung mit Kupfer- oder Cadmiumsalzen mittels Quecksilber(II)-chlorid stabilisierten. Zum Chromatographieren verwendet man das Lösungsmittelsystem n-Butanol-Essigsäure-Wasser (5:4:1). Das Gemisch der Aminosäuren (Lysin, Asparaginsäure, Glykokoll, Alanin, Threonin, Tyrosin, Methionin, Phenylalanin und Leucin) bzw. das von Salzen befreite biologische Material wird auf 3 cm breite Streifen von Whatman-Papier Nr. 1 aufgetragen. Das getrocknete Chromatogramm wird auf die gleiche Art und in derselben Richtung ein zweites und drittes Mal behandelt. Zur Entwicklung taucht man in eine 0,1%ige Lösung von Ninhydrin in einem Gemisch von Pyridin-Äthanol-Aceton (25:12,5:12,5) und läßt es ca. 12 Std bei Raumtemperatur trocknen. Dann taucht man es in 0,1%ige acetonische Lösung von Quecksilber(II)-chlorid und trocknet den Streifen bei Raumtemperatur. Die besonders beständigen rotvioletten Flecken photometriert man mit Hilfe des densitometrischen Zusatzgerätes im Pulfrich-Photometer (S 53) und verfährt weiter wie bekannt. Die Genauigkeit beträgt ± 5% im Konzentrationsbereich von 4—16 μg Aminosäure.

[1] Chem. analit. (Warszawa) **4**, 119—122 (1959) [Polnisch]. (Mit engl. Zus.fass.) Medizin. Akad. Lublin (Polen). H. Freytag

Eine modifizierte elektrochromatographische Methode zur Trennung von Aminosäuren unter Verwendung hoher Stromspannung (60 V/cm) empfiehlt P. Maslowski[1]. Diese Methode bietet den Vorteil größerer Trennschärfe, was die Identifizierung sowie das Eluieren zur colorimetrischen Bestimmung erleichtert. 17 Aminosäuren können glatt voneinander getrennt werden. — *Ausführung.* Man taucht einen Bogen (30 × 40 cm) Schl. & Sch.-Papier 2043 b in eine Pufferlösung von p_H 1,9 (150 ml Eisessig, 50 ml Ameisensäure und 800 ml bidest. Wasser) und quetscht den

Überschuß mit Gummiwalzen ab, legt den Bogen auf die obere Platte der Elektrophoresekammer und drückt ihn mit einer photographischen Walze an. 2 cm von einem Rand und 6 cm vom anodischen Ende trocknet man einen 1 cm langen Streifen gründlich mit einem Filterpapierstück. Nach Auftragen der zu untersuchenden Substanz mittels Mikropipette verbindet man den Papierbogen mit den Elektrodengefäßen mit Hilfe einer Cellophanmembran und bedeckt mit einer Glasscheibe. Das Elektropherogramm wird bei — 3° C mit 60 V/cm binnen 90 min entwickelt. Das fertige Pherogramm trocknet man bei Raumtemperatur bis zum Verschwinden des Säuregeruchs und näht dann einen 20×40 cm-Bogen Whatman-Papier Nr. 1 an. Hierauf formt man einen Zylinder aus den vereinten Bögen und vernäht mit einem Wollfaden. Diesen Zylinder taucht man in einer Glaskammer 1,5 cm tief in ein Gemisch von 2-Butanol-Ameisensäure-Wasser (75:15:10) und chromatographiert senkrecht zur Richtung der Elektrophorese bei 20° C im Verlauf von 16 Std. Nach Trocknung bei 80° C besprüht man mit einer Lösung von 0,5 g Ninhydrin in einem Gemisch von 300 ml Methanol, 175 ml n-Butanol und 15 ml 2 n Essigsäure und entwickelt durch 10 min langes Erhitzen auf 80° C.

[1] Chem. analit. (Warszawa) **4**, 611—618 (1959) [Polnisch]. (Mit engl. Zus.fass.) Landwirtschaftl. Hochsch. Olsztyn (Polen). H. Freytag

Eine halbautomatische Bestimmung von Aminosäuren an Austauscherharzen beschreiben P. B. Hamilton und R. A. Anderson[1]. Die Methode beruht darauf, daß die Hydrolysate an einer mit Amberlite CG 120 Typ III (20—40 μ-Teilchen, 8,5% vernetzt) gefüllten Kolonne (0,636×100 oder 0,9×100 cm) chromatographisch getrennt werden. Die Elution durch Puffer mit verschiedenem p_H (von 5,00—2,90) und bei verschiedenen Temperaturen (40—50° C) und Durchlaufgeschwindigkeiten (39—79 ml/cm²/Std) wird automatisch geregelt. Die verwendete Apparatur ist abgebildet und ausführlich beschrieben. Die Eluate werden mit Hilfe eines Fraktionssammlers in 1 oder 2 ml-Fraktionen aufgefangen, was je nach Größe der Kolonne und Druck (4,25 bzw. 12,6 at) 38 oder 18 Std in Anspruch nimmt. Die quantitative Bestimmung der Aminosäuren in den einzelnen Fraktionen erfolgt nach der Ninhydrin-Methode von Moore und Stein[2]. Durch Variierung der Versuchsbedingungen können auch seltener vorkommende und die basischen Aminosäuren erfaßt werden. Die optimale Konzentration zur Trennung liegt zwischen 2,5—5,0 μmol jeder Säure.

[1] Analyt. Chemistry **31**, 1504—1512 (1959). Alfred I. du Pont Inst. of Nemours Found., Wilmington, Del. (USA). — [2] Moore, S., u. W. H. Stein: J. biol. Chemistry **176**, 367 (1948). Ursula Baumann

Die Trennung und Bestimmung markierter ^{131}Jodaminosäuren im Plasma nach Verabreichung von $Na^{131}J$ beschreiben J. Wynn, I. Fabrikant und W. P. Deiss[1]. Die Jodaminosäuren werden an Dowex I adsorbiert und mit 5—88%iger Ameisensäure stufenweise eluiert. ^{131}J bleibt am Harz zurück. Verff. trennen so *Monojodthyrosin(I)*, *Dijodthyrosin(II)*, *3,5-Dijodthyronin(III)*, *3,5,3'-Trijodthyronin(IV)* und *Thyroxin(V)*. — *Ausführung. Vorbereitung der Säule.* 450 g Dowex 1 X 2 (200—400 mesh) werden 6 Std in 6 n Natronlauge, 6 Std in 88%iger Ameisensäure, 3 Std in Salzsäure und nach Auswaschen mit Wasser nochmals 3 Std in 6 n Salzsäure auf dem Dampfbad erhitzt. Dann wird das Harz mit Wasser ausgewaschen bis das Waschwasser einen p_H-Wert von 4,5—7,0 zeigt. Das Harz wird in einem 4 l-Kolben mehrmals mit Wasser suspendiert und dekantiert. Man entnimmt den Teil des Harzes, der 3 min nach dem Schütteln noch suspendiert bleibt und sich in 10 min absetzt, und bewahrt ihn mit neutralem Überstand bei 4° C auf. — Die Säule (1 m lang, 9 mm ∅), die mit einem Wassermantel auf 45° C konstant gehalten wird, füllt man mit einem Glaswollepfropfen, 3 cm gewaschenem Sand, 75 cm frisch

bereitetem Harz und 3 cm Sand. — Das Harz kann nur so lange wieder verwendet werden, bis eine gewisse Grenze der Beladung (50000 Impulse/min) erreicht ist. Nach jeder Analyse dekantiert man zur Regenerierung das Harz vom Sand, erhitzt 2—3 Std in 6 n Salzsäure und wäscht bis p_H 4,5—7,0 mit Wasser. — *Bestimmung des gesamten proteingebundenen* ^{131}J. 3 ml des Plasmas, das 24 Std nach Verabreichung der markierten Substanz analysiert werden soll, werden mit Wasser und 50%iger Trichloressigsäure so versetzt, daß die Konzentration an Trichloressigsäure 10% beträgt. Der Niederschlag wird mit 10%iger Trichloressigsäure nachgewaschen und die Radioaktivität gemessen. — *Trennung der Jodaminosäuren.* Weitere 20 ml Plasma werden mit 3 ml des wie obenbehandelten Harzes versetzt. Nach Zugabe von 5 ml 17 n Ammoniak soll der p_H-Wert jetzt 10,5—11,0 betragen. Man füllt auf 40 ml auf und schüttelt horizontal 1 Std. Danach wird zentrifugiert und dekantiert. Man bestimmt die Radioaktivität im Überstand und im Harz. Gewöhnlich werden 88—98% der Aktivität am Harz fixiert. Das Harz wird 2 mal mit Wasser und Ammoniak gewaschen, mit 40 ml Wasser versetzt und auf unter 10° C abgekühlt. Man gibt 0,5—10 ml 1 n Salzsäure zu (p_H 3) und bringt die Lösung 15 min unter Vakuum, wobei das CO_2 entweicht. Der Überstand wird dann abpipettiert. Das Harz, das die Jodaminosäuren enthält, wird auf die oben beschriebene Säule gegeben. Dann schließt man die Füllung mit 3 ml Sand ab und füllt die restlichen 5—10 cm der Säule und 2 cm des anschließenden Reservoirs mit ausgekochtem Wasser. Zur Gradient-Elution gibt man in den Mischer 70 ml 5%ige Ameisensäure und in das Reservoir 160 ml 45%ige Ameisensäure. Nach 30 5 ml-Fraktionen entleert man das Reservoir, bringt die Konzentration im Mischer auf 70% und gibt in das Reservoir 80 ml 88%ige Ameisensäure. Die Temperatur wird auf 55 °C erhöht. Alle Fraktionen werden mit einem Scintillationszähler durchgemessen. Die obengenannten Jodaminosäuren werden wie folgt eluiert: I: 8.—11. Fraktion, II: 12.—16., III: 20.—25., IV: 27.—32., V: 32.—37. Fraktion. — Zur weiteren Identifizierung wird die Papierchromatographie auf Whatman-Papier 3 MM mit n-Butanol-2 n Ammoniak oder n-Butanol-Essigsäure und Anfärben mit diazotierter Sulfanilsäure herangezogen. Dem Plasma werden dann vor Beginn der säulenchromatographischen Trennung Standardaminosäuren zugesetzt.

[1] Arch. Biochem. Biophysics **84**, 106—115 (1959). Duke Univ. und Veterans Admin. Hosp., Durham, N. C. (USA). MARGOT ZIMMERMANN

Die konduktometrische Bestimmung von Mercaptogruppen im Ovalbumin mit Cyanoferrat(III) führen J. M. KATYAL und G. GORIN[1] durch. Die Ergebnisse, die durch *spektrophotometrische* und *colorimetrische* Messungen gestützt werden, zeigen, daß im Ovalbumin 4,0 Mercaptogruppen auf ein Molekül kommen, wenn man ein Mol-Gewicht von 45000 annimmt. — *Arbeitsweise. 1. Elektrometrische (amperometrische) Bestimmung.* Die Messung wird in der von H. G. WADDILL und G. GORIN[2] beschriebenen Apparatur ausgeführt. Da die Reaktion zwischen nativem Ovalbumin und Cyanoferrat(III) außerordentlich langsam verläuft, werden dem Gemisch Natriumdodecylsulfat (SDS) oder Dodecyltrimethylammoniumchlorid (DAC) in 1%iger Lösung als Denaturierungsmittel beigegeben. Man mischt in einem 100 ml-Becherglas 5 ml Ovalbuminlösung (aus 2 mal umkristallisiertem, lyophilisiertem Ovalbumin) mit 10 ml Phosphatpuffer (1 m Phosphat, p_H 7,1), 2—3 ml 0,001 m Kaliumjodid- und 10 ml SDS- oder DAC-Lösung, taucht die Elektroden ein und notiert die Stellung des Instrumentes als Ausgangspunkt. Dann setzt man eine abgemessene Menge Kaliumhexacyanoferrat(III)-lösung zu, läßt 45 min (bei SDS-Zusatz) oder 15 min (DAC) bei 37° C unter Lichtausschluß stehen und liest den Stromfluß am Galvanometer ab. Das wiederholt man einige Male und trägt die Abhängigkeit des Stromdurchganges von der zugesetzten Menge Cyanoferrat(III) in ein Koordinatensystem ein. Man extrapoliert die gerade Linie auf den Ausgangspunkt

und ermittelt so die Menge Caynoferrat(III), die wirklich mit den Mercaptogruppen reagiert hat. Die Spezifität der Reaktion wird dadurch bewiesen, daß bei Blockierung der Mercaptogruppen mit Natrium-p-chlormercuribenzoat kein Cyanoferrat(III) verbraucht wird. 2. *Spektrophotometrische Messung.* Man löst eine abgewogene Menge Ovalbumin in 5 ml Phosphatpuffer (p_H 7,1) und setzt 2 ml 0,001 m Kaliumjodidlösung, 5 ml 0,004 m Kaliumcyanoferrat(III)-lösung sowie 10 ml 10%ige SDS- oder DAC-Lösung zu. Man läßt 45 min bei 37° C stehen, verdünnt auf 25 ml und mißt die Extinktion in einem aliquoten Teil bei 440 nm. An der Abnahme der Absorption in Vergleich zur Blindprobe ergibt sich der Verbrauch an Cyanoferrat(III). 3. *Colorimetrische Bestimmung.* Das abgewogene Ovalbumin wird in 10 ml Wasser gelöst, 1 ml Phosphatpuffer (p_H 7,1) und 3 ml SDS-Lösung werden zugesetzt und die Mischung wird auf 37° C erwärmt. Dann gibt man 2 ml 0,025 m Kaliumcyanoferrat(III)-lösung und nach 5 min 2,5 ml 2 n Schwefelsäure sowie 3 ml Eisen(III)-sulfatlösung zu und verdünnt auf 50 ml. Man mißt die Extinktion nach 20 min, hier in einem Lumetron 400-Colorimeter unter Verwendung eines Rotfilters. Die verbrauchte Menge Cyanoferrat(III) ermittelt man aus einer Eichkurve.

[1] Arch. Biochemistry **82**, 319—329 (1959). Univ. Stillwater, Okla. (USA). — [2] Analyt. Chemistry **30**, 1069 (1958); vgl. diese Z. **167**, 459 (1959).

Ursula Baumann

Über die Chromatographie von Proteinen und Insulin an Celite-Ionenaustauschern berichtet N. K. Boardman [1,2]. Mit Celite-Carbonsäureaustauscher und Celite-Sulfonsäureaustauscher, deren Herstellung Verf. genau angibt, untersucht er das chromatographische Verhalten von Cytochrom c. In ausführlich beschriebenen und mit Kurven belegten Versuchen ergibt sich, daß der Sulfonsäureausstauscher eine relativ sehr hohe Adsorption für Cytochrom c bei p_H-Werten unterhalb 6 zeigt. Verf. bespricht die Befunde und stellt eine Hypothese der hier erzielten hohen Adsorption von Protein zur Diskussion[1]. — Für *Insulin*[2] eignet sich von den in der vorhergehenden Arbeit beschriebenen Austauschern nur der Sulfonsäureaustauscher, da an dem mit Carbonsäuregruppen Insulin irreversibel adsorbiert wird. Nicht nur ein Rohinsulin, sondern auch einige kristallisierte Präparate bestehen auch mehr als einer Komponente. Zum schnellen Dialysieren der Eluate gibt Verf. eine einfache, sehr wirksame Anordnung an, die auch abgebildet ist: in dem Dialysiercellophanschlauch rotiert ein ziemlich eng anliegender Hohlglaszylinder, der unten geschlossen ist und oben durch ein dünnes, angeschmolzenes Glasrohr mit der Achse des Rührmotors in Verbindung steht[2].

[1] J. Chromatogr. (Amsterdam) **2**, 388—397 (1959). Univ. Cambridge (England). — [2] J. Chromatogr. (Amsterdam) **2**, 398—405 (1959). E. Müller, Würzburg

Die spektrophotometrische Bestimmung von Proteinen bei 210 nm beschreiben M. P. Tombs, F. Souter und N. F. Maclagan [1]. Bei dieser Wellenlänge zeigen die Gesamtproteine von 40 untersuchten *normalen* und *pathologischen Seren* sowie reine Lösungen von *Albumin*, α,β- und γ-*Globulin* einen Extinktionskoeffizienten von $E_{1\,cm}^{0,1\,\%}$ 20,5 $\pm$ 0,14. Die Methode ist bei allen Proteinen verwendbar, die keine allzugroßen Mengen aromatischer Aminosäuren enthalten. Sie gestattet den Nachweis von 2 μg Protein/ml, entsprechend einer Extinktion von 0,04. Zur Messung wird 0,1 ml Serum mit 0,9%iger Kochsalzlösung auf 200 ml verdünnt und die Extinktion innerhalb von 2 Std in 1 cm-Quarz-Küvetten bei einer Spaltbreite von 1,4 mm und bei 210 nm gemessen. Als Standard eignet sich eine Lösung von 6,0 g Rinderalbumin/100 ml in Verdünnungen von 1:1500 und 1:3000.

[1] Biochemic. J. **73**, 167—171 (1959). Westminster Med. School, London (England).

Ursula Baumann

Bestimmung von Eiweiß im Serum. Die schon früher von H. P. Rieder[1] als am genauesten empfohlene Folin-Wu-Methode wird in einer neuen Arbeit von H. P. Rieder[2] einer gründlichen Überprüfung unterzogen. Dabei konnte er die Ursache der vereinzelt und völlig unsystematisch auftretenden blauen Blindproben klären. Wird nämlich die Farbreaktion wie üblich in einem kurzen Reagensglas ausgeführt, so kann es vorkommen, daß beim Schütteln ein Tröpfchen die Hand berührt und wieder zurückfällt. Eine solche Berührung mit der Haut genügt, um den Blindwert bis zu 0,100 E = 20 μg zu verfälschen. Es sollen deshalb nur lange Reagensgläser benutzt werden. Auch ist ein Berühren des Randes der Reagensgläser, über den die Flüssigkeit ausgegossen wird, zu vermeiden. Besonders zu empfehlen ist der Ansatz von 2 Blindwerten bei einer größeren Meßreihe. Man sichert sich auf diese Weise vor dem Verlust ganzer Meßreihen. — Die zu messende Lösung soll eine Extinktion zwischen 0,6 und 0,1 geben (1—150 mg-% Eiweiß). In diesem Bereich ist die Eichkurve annähernd linear, biegt aber darüber stark ab. Als Standardsubstanz zur Aufstellung der Eichkurve empfiehlt Verf. ein Gemisch von reinstem Albumin und Globulin (57:43). Da das Extinktionsmaximum des Farbkomplexes zwischen 760 und 750 nm schwankt, wird am besten bei 755 nm abgelesen. Zur Kontrolle liest man bei 740 und 770 nm mit ab. — Nach Studium des Einflusses der Temperatur auf die Bestimmung wird festgestellt, daß ein 2stündiges Abwarten der Farbentwicklung nicht notwendig ist. Verf. kann mit folgender *Arbeitsweise* eine Abkürzung auf 30 min erreichen: 1 ml einer 0,5%igen $CuSO_4$-Lösung in 1%iger Natriumcitratlösung wird mit 2%iger Natriumcarbonatlösung in 0,1 n Natronlauge (CO_2-frei) kurz vor Gebrauch auf 50 ml verdünnt. Zu 5 ml dieser Lösung gibt man 0,1 ml Liquor und läßt 10 min stehen. Unter Schütteln wird die Lösung mit 0,5 ml Phenolreagenslösung nach Folin-Ciocalteu, eingestellt auf 1 n Lösung[3], versetzt und in ein Wasserbad von 35° C gestellt, wo man sie 45 min sich selbst überläßt. Danach gießt man die Lösung in die Küvette über und mißt gegen den Blindwert, den man mit 0,1 ml physiologischer Kochsalzlösung analog herstellt, die Extinktion bei 755 nm.

[1] Clin. chim. Acta (Amsterdam) **3**, 455 (1958); vgl. diese Z. **167**, 462 (1959). — [2] Clin. chim. Acta (Amsterdam) **4**, 733—740 (1959); Psychiatr. und Neurolog. Univ.-Klinik, Basel (Schweiz). — [3] Eggstein, M., u. F. H. Kreutz: Klin. Wschr. **33**, 879 (1955). Margot Zimmermann

Zur quantitativen Bestimmung von Plasmaproteinen nach elektrophoretischer Trennung auf Celluloseacetatstreifen beschreibt F. Albert-Recht[1] ein Verfahren. Die Streifen (2,5 × 10 cm) werden nach der Elektrophorese (Veronal-Acetatpuffer, p_H 6,8; 90—100 min bei 130—140 V) mit einer 5%igen Lösung von Lissamingrün (Gurr) in 6%iger Salicylsulfonsäurelösung 20 min angefärbt, mehrmals mit 5%iger Essigsäure gewaschen, zwischen Filterpapier abgetrocknet und mit „White Oil" transparent gemacht. Es werden gut getrennte Zonen zwischen 6 und 8 cm sichtbar. Die Messung geschieht in einer automatischen Apparatur mit Extinktionsschreiber (Ilford Rotfilter 204). Die Kurven werden an Hand des Flächengewichtes ausgewertet. — Ein Vergleich mit Trennungen auf Whatman-Papier 3 MM und Elution mit 40%iger Essigsäure zeigt, daß die Ergebnisse bis zu 3 g Protein/100 ml auf Celluloseacetat genauer sind. — Für eine rasche Bestimmung von *Albumin-α-1-Globulin-Verhältnissen* wird die Elution der Celluloseacetatstreifen vorgezogen. Die Streifen werden 40—50 min bei 150 V der Elektrophorese unterworfen, nach dem Anfärben und Waschen zerschnitten und in 40%iger Essigsäure 4 min im Wasserbad eluiert. Nach dem Abkühlen und Zentrifugieren mißt man die optische Dichte der

Lösung im Spektrophotometer SP 600 bei 630 nm. Es sollen höchstens 3,0 μl Serum aufgetragen werden.

[1] Clin. chim. Acta (Amsterdam) **4**, 627—638 (1959) Univ. Edinburgh (England).
MARGOT ZIMMERMANN

Eine Bestimmung des Disulfidgehaltes von intakten Proteinen ist nach einer von S. J. LEACH[1] beschriebenen Methode möglich. Das Protein wird in Anwesenheit eines Sulfitüberschusses mit Quecksilber(II)-chlorid amperometrisch titriert. Als Indicatorelektrode dient eine Quecksilbertropfelektrode, deren Potential gegenüber einer gesätt. Kalomelelektrode auf — 1,0 V eingestellt ist. Das Disulfid wird durch Sulfit zum Mercaptan reduziert. Bei der Zugabe von Quecksilber(II)-chlorid bildet sich Quecksilbermercaptid. Im Äquivalenzpunkt erfolgt ein starker Stromanstieg. Die Reaktion wird durch Harnstoff sehr beschleunigt. Bei löslichen Proteinen ist die Reaktion bei p_H 9 in wenigen Sekunden vollständig. Bei unlöslichen Proteinen muß man Sulfit und Quecksilber(II)-chlorid im Überschuß zusetzen und nach 18 Std den Hg-Überschuß bestimmen. Bei Proteinen, deren Disulfidgruppe bereits oxydativ oder reduktiv aufgespalten wurde, sind 4 Std zur quantitativen Reaktion erforderlich. Die Standardabweichung beträgt $\pm$ 10 μMole/g Protein. — *Arbeitsweise* (für unlösliche Proteine). 2 mal 15 mg der Probe (Wolle) werden in 20 ml-Gefäße eingewogen und mit 10 ml Stammlösung (siehe unten) versetzt. Die Gefäße werden verschlossen und 18—24 Std bei 20° C stehen gelassen. Ein Teil der Lösung wird sodann in eine polarographische Zelle gegeben und der Diffusionsstrom (i_{Ende}) bei einem Potential von — 1,0 V gemessen. In gleicher Weise wird der Diffusionsstrom der Stammlösung bestimmt (= i_{Anfang}). Weiterhin wird der Reststrom einer Lösung ermittelt, die die obigen Zusätze mit Ausnahme von Wolle und Quecksilber(II)-chlorid enthält. Der Gehalt an Disulfid und Thiol ist gleich $1 \cdot 10^4 \cdot (i_{Anfang} - i_{Ende})/\text{Einwaage} \cdot (i_{Anfang} - i_{Rest})$ μMol/g Wolle. — *Bestimmung des Thiolgehaltes.* Hierzu wird zur Wolle der 2fache Überschuß von Methylquecksilberjodid ($5 \cdot 10^{-4}$ m wäßrige Lösung) gegeben und auf ein p_H zwischen 5,5 und 9 eingestellt. Nachdem man 4 Std bei 20° C stehen gelassen hat, wird der Quecksilberüberschuß polarographisch in Anwesenheit von Gelatine bestimmt. — *Stammlösung.* Diese ist 8 m an Harnstoff, 0,16 m an Ammoniumchlorid, 0,04 m an Ammoniak, 0,2 m an Natriumsulfit, 0,4 m an Kaliumchlorid, 0,005%ig an Gelatine und $5 \cdot 10^{-4}$ m an Quecksilber(II)-chlorid.

[1] Biochim. biophysica Acta (Amsterdam) **33**, 264—266 (1959). C. S. I. R. O, Parkville, Melbourne, Victoria (Australien). G. KAINZ

Eine Methode zur Bestimmung von Haptoglobin im Serum teilt F. A. HOMMES[1] mit. Das Prinzip besteht in der papierelektrophoretischen Trennung von Hämoglobin und dem Haptoglobin-Hämoglobinkomplex, wobei das Hämoglobin zur Anode, der Komplex aber zur Kathode wandert, Elution des Komplexes und spektrophotometrischer Bestimmung seiner Peroxydaseaktivität. — Das Serum versetzt man mit einem Überschuß von CO-Hämoglobin (siehe unten) und trägt davon 0,03 ml in der Mitte eines 5 cm breiten Streifens von Whatman-Papier Nr. 1 als 3 cm langen Strich auf. Die Trennung führt man mit 0,05 m Natriumphosphatpufferlösung von p_H 6,9 über Nacht 14 Std lang bei einem Potentialgradienten von 2 V/cm bei 2° C durch. Einen Streifen von 2 cm von der Startlinie kathodenwärts schneidet man aus, spitzt ihn an einem Ende zu, über das man ihn nach F. SANGER und H. TUPPY[2] in eine Capillare (20 · 0,5 cm) mit obiger Pufferlösung eluiert, wobei der Streifen in bekannter Weise zwischen zwei Glasplatten liegt. Nach 3stündiger Elution bläst man den Capillarinhalt in eine Photometerküvette, die 3 ml Reaktionsgemisch (siehe unten) enthält, aus und mißt die Extinktion nach

genau 30 sec bei 470 nm[3]. Die Normalwerte liegen beim Menschen für Haptoglobin zwischen einem $\Delta\varepsilon \cdot 10^3/30$ sec von 26—220, Mittel 165. Die Fehlerbreite beträgt 1,8%. — *CO-Hämoglobin.* Rindererythrocyten wäscht man mehrmals mit 0,9 %iger Natriumchloridlösung und hämolysiert mit der gleichen Menge Wasser + der halben Menge Toluol unter 2 min langem Schütteln. Nach 14stündigem Stehen bei 2° C zentrifugiert man, hebert Toluol und Stroma ab und filtriert die Hämoglobinlösung durch Celite 535. In einem aliquoten Teil bestimmt man die Hämoglobinkonzentration mit einer Cyanamethämoglobinmethode unter Verwendung eines Millimolarextinktionskoeffizienten von 11,4. Durch die Hämoglobinlösung leitet man einen kräftigen Kohlenmonoxydstrom. — Das *Reaktionsgemisch* besteht aus 0,15 m Natriumacetatpufferlösung von p_H 5.0 mit 20 mMol Guajacol. Kurz vor Gebrauch setzt man eine definierte Menge konzentriertes Wasserstoffperoxyd hinzu, so daß die Konzentration 40 mMol beträgt.

[1] Clin. chim. Acta (Amsterdam) 4, 707—709 (1959). Univ. Nijmegen (Holland). — [2] Biochemic. J. 49, 466 (1951). — [3] Chance, B., u. A. C. Maehly: in Colowick, S. P., u. N. O. Kaplan: Methods in Enzymology, Vol. II. 764, New York 1955.

E. Müller, Würzburg

Über die Trennung und Bestimmung der Zucker in Glykoproteiden auf papierchromatographischem Weg berichten R. Bourrillon und J. Michon[1]. Bekannte Verfahren werden dadurch verbessert, daß Verff. für das absteigende Verfahren 2 neue Laufmittelsysteme einführen: Butanol-Pyridin-0.1 n Salzsäure (5:3:2) und Isoamylalkohol-Pyridin-0.1 n Salzsäure (4:4:2). Damit lassen sich Gemische von *Fucose, Rhamnose, Mannose, Glucose, Galaktose, Glucosamin, Galaktosamin, Sialinsäure* und *Glucuronsäure* gut trennen. In Testversuchen zugesetzte bekannte Mengen findet man zu 95—100% wieder. Die Bestimmung erfolgt im Eluat ausgeschnittener Papierareale, die den sichtbar gemachten Flecken mitlaufender Testsubstanzen entsprechen, in bekannter Weise.

[1] Bull. Soc. Chim. biol. (Paris) 41, 267—276 (1959). Fac. Med., Paris Hop. Tours (Frankreich). E. Müller, Würzburg

Eine enzymatische Bestimmung der Oxalessigsäure im Blut, bei der die mit der Reduktion von Oxalessigsäure zu Äpfelsäure einhergehende Konzentrationsabnahme von Diphosphopyridinnucleotid gemessen wird, beschreiben W. Keller und L. Denz[1]. Im menschlichen Blut wurden durchschnittlich 0,38 mg-% Oxalessigsäure nachgewiesen. — *Arbeitsweise.* Man gibt 1 ml Fingerbeerenblut zu 1 ml 10%iger, eisgekühlter Natriumwolframatlösung ($Na_2WO_4 \cdot 2\,H_2O$), setzt 1 ml 0,66 n Schwefelsäure zu und läßt 10 min in Eis stehen. Dann zentrifugiert man 10 min bei 4000 U/min, hebert ab und zentrifugiert nochmal 3 min. In eine Küvette (20 mm Schichtdicke, 8 ml Inhalt) pipettiert man 1,50 ml Zentrifugat, 0,23 ml 1%ige ÄDTA-Lösung, 0,20 ml 36%ige Triäthanolaminlösung, 6,00 ml Wasser und 0,50 ml Diphosphopyridinnucleotidlösung (10 mg/ml). Man mißt die Extinktion, hier in einen Eppendorf-Photometer mit Filter 366 nm. Dann gibt man 0,02 ml Äpfelsäuredehydrogenase (5 mg 10 ml Suspension in Ammoniumsulfatlösung) in die Küvette, rührt um und mißt die Extinktion laufend ab, bis sie nicht mehr abfällt (etwa 15 min). Die Extinktionsdifferenz entspricht dem Verbrauch an Nucleotid, der dem Oxalessigsäuregehalt äquimolekular ist. Dieser errechnet sich aus folgender Formel: Milligramm-Prozent Oxalessigsäure $= \Delta E \cdot 32$.

[1] Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. **314**, 153—155 (1959). Max Planck-Inst. f. Ernährungsphysiol., Dortmund. Ursula Baumann

Eine Methode zur Bestimmung von Inulin in Blut und Harn teilen V. E. Levine und W. W. Becker[1] mit. Das Verfahren beruht auf der Farbstoffbildung, die

mit Inulin und Vanillin in saurem Medium eintritt. Die Reaktion fällt unter einer großen Zahl untersuchter Kohlenhydrate nur mit Ketosen und fructosehaltigen Sacchariden positiv, tief rot, aus. Aldosen und Aldosaccharide geben nur eine schwach gelbe oder schwach orange Reaktion. Die Methode ist einfach, schnell und gibt reproduzierbare Werte. — *Ausführung. Blut.* Man setzt eine Probe vor Inulingabe als Blindwert und eine nach Verabreichung an; beide Proben enthalten 2 mg Natriumfluorid/ml. Einen Teil des durch Zentrifugieren gewonnenen Plasmas versetzt man unter Mischen mit 5 Teilen Wasser, 2 Teilen 10%iger Zinksulfatdekahydratlösung, 2 Teilen 0,5 n Natronlauge und filtriert. Man pipettiert 2 ml Filtrat in ein Reagensglas, setzt 0,8 ml 1%ige wäßrige Vanillinlösung (nicht lange haltbar) und 2,2 ml konz. Schwefelsäure zu und schüttelt 15 sec. Eine entsprechend verdünnte Standardstammlösung von 1 mg Inulin/ml gesätt. Benzoesäurelösung behandelt man ebenso. Als Reagensblindansatz laufen 2 ml Filtrat von 6 Teilen Wasser, 2 Teilen 10%iger Zinksulfatlösung und 2 Teilen 0,5 n Natronlauge mit. Alle Ansätze taucht man für 2 min in ein siedendes Wasserbad. Nach etwa 2 min Kühlen in Eiswasser mißt man die Extinktion bei 520 nm innerhalb von 10—20 min bei Raumtemperatur. — *Harn.* Auch hier setzt man eine Probe ohne Inulin (vor Inulingabe) und eine mit an. 1 Teil Harn versetzt man mit 5 Teilen Wasser, 2 Teilen 10%iger Zinksulfatlösung und 2 Teilen 0,5 n Natronlauge. Das Filtrat verdünnt man mit Wasser bis zu einem Gehalt von 10—100 μg Inulin. — *Berechnung.* (Extinktion Probe/Extinktion Standard) · Standardkonzentration · (Zahl, mit der man 100 ml Plasma oder Harn erhält) = Konzentration von Inulin oder Inulin plus inulinähnlicher Verbindungen in 100 ml Plasma oder Harn.

[1] Clin. Chemistry **5**, 142—148 (1959). Univ. School Med., Omaha, Nebr. (USA).
E. Müller, Würzburg

Zur Bestimmung von Chitin hat J. Popowicz[1] eine Methode entwickelt, die auf der leichten Löslichkeit des Chitins in konz. Salpetersäure und der gleich darauffolgenden, durch NaOH-Zugabe bewirkten Ausfällung eines feinkörnigen Niederschlags des hydrolysierten Chitins beruht; die so entstandene Trübung der Lösung, die durch Zugabe von Akaziengummilösung stabilisiert wird, ist dem Chitingehalt der analysierten Probe proportional und läßt sich turbidimetrisch ermitteln. Die untere Bestimmungsgrenze liegt bei 0,1 mg Chitin, die obere Grenze bei 15,0 mg. — *Ausführung.* Die zu untersuchende, vorher sorgfältig entfärbte und entkalkte Chitinprobe wird zunächst mit Aceton und Äthyläther getrocknet. Dann werden 1—10 mg dieser Probe im Probierglas mit 0,3 ml konz. Salpetersäure (D 1,4) vermischt, das Probierglas in siedendes Wasserbad für genau 30 sec eingetaucht, unmittelbar darauf mit 5 ml 1%iger Akaziengummilösung versetzt und danach in kaltem Wasserbad abgekühlt. Der Inhalt des Probierglases wird dann mit 30%iger NaOH-Lösung neutralisiert und mit Akaziengummilösung bis zum 10 ml-Endvolumen aufgefüllt. Nach 20 min langem Stehen bei Raumtemperatur wird die Trübung in 16 mm-Küvetten bei 550 nm gemessen. Die Trübungsintensität ist im Bereich von 1—12 mg Chitin dem Gehalt proportional. Falls chitinärmere Proben vorliegen (Gehalte von 0,1—1 mg), ist die zu untersuchende Probe nur in 0,1 ml konz. Salpetersäure zu lösen und die turbidimetrische Messung kann in 50 mm-Küvetten des Pulfrich-Photometers mit Hilfe des S 53-Filters vorgenommen werden. Die Eichgeraden werden mit Hilfe von Chitin-Standardproben auf die angeführte Art aufgestellt. — Für das beschriebene Bestimmungsverfahren sind die Temperatur und die Dauer der Chitinauflösung in Salpetersäure von großer Bedeutung; sie müssen daher genau eingehalten werden.

[1] Chem. analit. (Warszawa) **4**, 7—8 (1959) [Polnisch]. (Mit engl. Zus.fass.)
Medizin. Akad., Białystok (Polen). M. Hřivnáč

Über die Papierchromatographie einiger Gewebsamine berichtet G. B. West[1]. Wenn tierische Gewebe mit Trichloressigsäure, Trifluoressigsäure oder Pikrinsäure zur Eiweißbeseitigung homogenisiert werden und der Zentrifugatüberstand für den papierchromatographischen Nachweis von Aminen benutzt wird, tritt in 4 verschiedenen Laufmittelsystemen neben dem Fleck mit dem für das Amin bekannten R_f-Wert noch ein schneller laufender Fleck auf, wobei das Amin zu etwa gleichen Teilen auf beide Flecken verteilt ist. Anwesenheit von Arginin, Lysin und Ornithin vermehren den Amingehalt des schnelleren Fleckes. Folgende Amine zeigen das geschilderte Verhalten: *Adrenalin, Noradrenalin, N-Äthylnoradrenalin, N-Isopropylnoradrenalin (Isoprenalin), Corbasil, α-Äthylnoradrenalin, Dopamin, Epinin, Tyramin, Paredrin, p- und m-Sympatol, Propadrin, Ephedrin, Amphetamin, Adrenalon,* die beiden *Aminosäuren 3,4-Dihydroxyphenylserin* und *3,4-Dihydroxyphenylalanin, Histamin, Tryptamin, 5-Hydroxytryptamin* und *NN-Dimethyl-5-hydroxytryptamin (Bufotenin).* Bei Lösungen in Salzsäure, Essigsäure und Oxalsäure beobachtet man das Phänomen nicht. Von den bei Histamin biologisch wirksamen Substanzen „Verbindung 48/80" und Tubocurarin wirkt hier nur die erste im Sinne der 3 basischen Aminosäuren.

[1] J. Pharmacy Pharmacol. **11**, 595—599 (1959). Univ. London (England).
E. Müller, Würzburg

Über Extraktionsmöglichkeiten von Aminophenolen und Aminobenzoesäuren, die sich auf *biologisches Material* anwenden lassen, berichtet S. L. Tompsett[1]. Bei den Untersuchungen beschränkt sich Verf. auf o- und p-Aminophenol, o- und p-Aminobenzoesäure und auf *3-Hydroxyanthranilsäure.* Versuche mit Lösungsgemischen dieser Verbindungen ergeben, daß mit Ätherextraktion bei verschiedenen p_H-Werten, < 1, 3,0, 7,0, eine nicht scharf begrenzte, selektive Extraktion möglich ist. Bedeutend bessere Trenneffekte erhält man, wenn man die in 0,1 n Salzsäure gelösten Substanzen an Dowex 50, H^+-Form, adsorbiert und nacheinander mit 1 n und 2,5 n Salzsäure eluiert.

[1] Anal. chim. Acta (Amsterdam) **21**, 555—560 (1959). North. General Hosp., Edinburgh (Schottland). E. Müller, Würzburg

Über die hohe Auflösung der Infrarotspektren von Steroiden im Bereich der Kohlenstoff-Wasserstoff-Banden berichten A. M. Smith und C. R. Eddy[1]. Verff. untersuchen 40 Steroidsapogenine im Bereich 3100—2750 cm^{-1} unter Verwendung eines Lithiumfluoridprismas. Die Ergebnisse sind in Tabellen und Abbildungen der Spektren zusammengestellt. Es lassen sich $=CH$-, $-CH_2$- und $-CH_3$-Gruppen nachweisen. Häufig kann man zwischen 25 D- und 25 L-Konfiguration unterscheiden, Öffnung der E- und F-Ringe beobachten und die Konfiguration der Methylgruppe in 20-Stellung bestimmen.

[1] Analyt. Chemistry **31**, 1539—1542 (1959). Temple Univ., Philadelphia, Pa. (USA). E. Müller, Würzburg

Über die papierelektrophoretische Trennung synthetischer Steroidester berichten O. J. Schmid, A. Oriol-Bosch und K. D. Voigt[1]. Verff. unterwerfen 8 Steroidester der Hoch- und Mittelspannungselektrophorese bei p_H 3,5; 7,3 und 8,8. Bei p_H 3,5 erzielt man verhältnismäßig gute Trenneffekte, hinzu kommt, daß die Ester bei diesem p_H-Wert am besten löslich sind. Allerdings muß man gleich auftragen, damit es nicht zur Hydrolyse kommt. Die Spannung hat keinen, die Auftragsstelle nur geringe Wirkung auf die Trennung. Die Ergebnisse sind mit Tabellen und Abbildungen belegt und werden diskutiert.

[1] Clin. chim. Acta (Amsterdam) **4**, 599—605 (1959). Univ.-Krankenhaus Hamburg-Eppendorf. E. Müller, Würzburg

Eine vergleichende Bestimmung der Lipidhydroxyde und verschiedener Steroide im Harn führen S. H. Weinmann und M. F. Jayle[1] nach bekannten Methoden aus. Sie stellen fest, daß die Bestimmung der Lipidhydroxyde nicht spezifisch genug ist, um aus den Ergebnissen Schlüsse auf den Steroid-Stoffwechsel zu ziehen. Sie ist nur geeignet zu Bestimmung der Hydroxylgruppen in gereinigten Steroidfraktionen.

[1] Bull. Soc. Chim. biol. **41**, 487—492 (1959). Fac. Med., Paris (Frankreich).
Ursula Baumann

Über eine Modifizierung der Theorell-Methode[1] zur Bestimmung des Gesamtcholesterins im Serum berichten K. Cramér und B. Isaksson[2]. Bei einem Vergleich mit der Methode nach W. M. Sperry und M. Webb[3], die mehr und zeitraubende Manipulationen erfordert, zeigt sich, daß die Werte nach Theorell 4,6% höher liegen, was auf Substanzverluste bei der anderen Arbeitsweise zurückgeführt wird. — *Ausführung.* Man gibt 1 ml Plasma tropfenweise unter ständigem Schütteln zu 20 ml Aceton-Äthanol (1:1) und erhitzt zum Sieden. Nach dem Abkühlen filtriert man durch ein fettfreies Filter in einen 25 ml-Meßkolben, wäscht mit Aceton-Äthanol nach und füllt zur Marke auf. 2 ml der Lösung dampft man im Reagensglas auf dem Wasserbad zur Trockene ein, nimmt den Rückstand in 1,00 ml Chloroform auf, setzt 2,00 ml Essigsäureanhydrid und dann 0,25 ml eines Gemisches von Eisessig und konz. Schwefelsäure (9:1) zu und schüttelt um. Man erhitzt das Gemisch genau 13 min in einem Wasserbad auf 35° C und mißt innerhalb 2 bis 10 min die Extinktion bei 660 nm gegen eine Blindprobe.

[1] Theorell, H., u. G. Widström: Z. ges. exp. Med. **75**, 699 (1931); vgl. diese Z. **94**, 449 (1933). — [2] Scand. J. clin. Lab. Invest. **11**, 213—216 (1959). Sahlgrenska Sjukhuset, Gothenburg und Länslasarettet, Mölndal (Schweden). — [3] J. biol. Chemistry **187**, 97 (1950). Ursula Baumann

Die Bestimmung des Cholesterins im Blut als Digitoninverbindung führt M. Herbain[1] mit einer modifizierten Methode nach W. M. Sperry und M. Webb[2] aus. Die ursprüngliche Methode wird insofern geändert, als 1. nur Blut verwendet wird, das unmittelbar vor der Analyse entnommen wurde, 2. das Blut vor der Extraktion 1:1 mit Wasser verdünnt wird (vollständigere Extraktion des Cholesterins), 3. mit der mindestens 50fachen Menge Äthanol-Aceton (1:1) extrahiert wird, 4. das Gemisch nicht mehr erwärmt, sondern nur 1 min manuell geschüttelt wird, 5. nach der Fällung mit Digitonin und Lösen des Komplexes in Essigsäure Pesezsches[3] Reagens zugegeben und dann colorimetriert wird. Die Bestimmung eignet sich besonders bei starker Hyperlipämie.

[1] Bull Soc. Chim. biol. **41**, 821—833 (1959). Services de Becherches, Roussel-Uclaf, Romainville/Seine (Frankreich). — [2] J. biol. Chemistry **187**, 97 (1950). — [3] Pesez, M.: Bull. Soc. Chim. France **1958**, 369. Ursula Baumann

Über die säulenchromatographische Trennung einiger D^4-3-Ketosteroide berichtet T. Seki[1]. An teilweise verestertem Amberlite IRC 50 lassen sich *17-Hydroxycorticosteron*, *11-Dehydro-17-hydroxycorticosteron*, *11-Desoxy-17-hydroxycorticosteron*, *Corticosteron*, *11-Desoxycorticosteron*, *Testosteron* und *Progesteron* gut trennen und zu 87—95% wieder gewinnen, wie aus einem Diagramm und einer Tabelle hervorgeht. — *Arbeitsweise.* Man läßt 50 ml Amberlite IRC 50 (H-Form; vorbereitet wie früher[2] beschrieben mit 500 ml eines Gemisches aus Äthanol, Methanol und 2 n Salzsäure (15:5:6) 40 Std lang kochen. Man wäscht mit einem Lösungsmittel aus Äthanol, Methanol und Wasser (15:5:11), schlämmt in 2 Volumina des Lösungsmittels auf und bringt in eine chromatographische Säule (108 × 0,8 cm). 1 ml der Steroidlösung (in dem gleichen Lösungsmittel) gibt man

dann auf die Säule, eluiert ebenfalls mit der Äthanol-Methanol-Wassermischung und sammelt das Eluat in Fraktionen zu je 40 Tr. (1 Tr./min; 10—15° C). Jede Fraktion verdünnt man mit 70%igem Äthanol auf 3,5 ml und mißt die Absorption bei 240 nm (Beckman DU Quarz-Spektrophotometer).

[1] J. Chromatogr. (Amsterdam) **2**, 667—669 (1959). Univ. Osaka (Japan). — [2] Seki, T.: J. Biochemistry (Tokyo) **45**, 855 (1958); vgl. diese Z. **172**, 213 (1960).

E. Müller, Würzburg

Spektralphotometrische Bestimmung von Cholsäure in Desoxycholsäure. Cholsäure gibt nach R. Willemart und J. Ferdet[1] bei der Behandlung mit warmer Phosphorsäure ein Dehydratisierungsprodukt, welches bei 260 und 388 nm charakteristische Absorptionsbanden aufweist, die eine spektralphotometrische Bestimmung ermöglichen. Desoxycholsäure ergibt nach gleicher Behandlung keine Substanz mit einer Absorption bei 250 nm. — *Bestimmung.* Die 300—600 µg Cholsäure enthaltende Analysenprobe wird in 2 ml 0,2 n Natriumcarbonatlösung gelöst, mit 10 ml Phosphorsäure (D 1,71) versetzt und 90 min auf 40° C erwärmt. Nach dem Abkühlen wird mit Butanol auf 25 ml aufgefüllt und nach 5 min Stehenlassen die Extinktion bei 260 nm spektralphotometrisch bestimmt. Aus Eichkurven kann der Gehalt an Cholsäure errechnet werden.

[1] Ann. pharmac. franç. **17**, 366—367 (1959). Serv. Sci. Roussel-Uclaf (Frankreich).

E. Bayer

Den Einfluß zugesetzten menschlichen Albumins bei der Bestimmung der Ketosteroide im Urin Schwangerer untersuchen H. Simmer und N. Scariano[1], wobei sie feststellen, daß die Ketosteroidwerte zu niedrig liegen. Umgekehrt lassen sich aus eiweißhaltigen Urinen von Schwangeren mit Spätgestosen zugesetztes Androsteron- oder Dehydroepiandrosteronsulfat unvollständiger isolieren als aus eiweißfreiem Harn. Durch Ausfällung des Eiweißes kann diese Fehlerquelle gar nicht, durch Hydrolyse mit Schwefelsäure wenigstens teilweise beseitigt werden. Damit ist bewiesen, daß die mit der Zimmermannschen Methode[2] ermittelten niedrigen Ketosteroidwerte bei Spättoxikosen nicht der tatsächlichen Ausscheidung entsprechen.

[1] Klin. Wschr. **37**, 975–978 (1959). Univ.-Frauenklinik, Freiburg i. Br. — [2] Zimmermann, W.: Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. **233**, 257 (1935); **245**, 47 (1936).

Ursula Baumann

Die colorimetrische Bestimmungsmethode für 3-Ketosteroide mit 2,6-di-tert.-butyl-p-kresol nach E. P. Schulz und J. D. Neuss[1] hat J. Bartos[2] durch Zusatz von Wasserstoffperoxyd modifiziert und dadurch die Empfindlichkeit erhöht. Man kann so besonders die gesätt. 3-Ketosteroide (Absorptionsmaximum 500 nm) von ihren ungesätt. Homologen unterscheiden (4,5-ungesättigt: Absorptionsmaximum 610 nm; 1,2-ungesättigt: keine Absorption). — *Arbeitsweise.* Man löst die Probe in 2 ml Äthanol, versetzt mit 1 ml 1%iger 2,6-Di-tert.butyl-p-kresol-Lösung (in Äthanol) sowie 0,2 ml 0,03%iger Wasserstoffperoxydlösung und 2 ml 1 n Natronlauge, erhitzt 30 min auf 80° C (Wasserbad), kühlt auf 18—20° C ab und mißt bei 460 (Carbonylgruppe in 11-Stellung), 500 bzw. 610 nm. — Ebenso kann auch *3,5-Di-tert.butyl-4-hydroxy-benzylalkohol* als Reagens verwendet werden. Man verfährt dann folgendermaßen: Man löst die Probe in 3 ml Äthanol, fügt 1 ml einer 0,1%igen alkoholischen Lösung des Reagenses sowie 1 ml 0,5 n Natronlauge hinzu, erhitzt 30 min auf 80° C, läßt abkühlen und mißt wie oben.

[1] Analyt. Chemistry **29**, 1662 (1957); vgl. diese Z. **163**, 72 (1958). — [2] Ann. pharmac. franç. **17**, 141—144 (1959). Serv. Rech. Roussel-Uclaf, Paris (Frankreich).

Johanna Sepp

Über die Trennung einiger Gallensäuren durch Glaspapierchromatographie berichten J. G. Hamilton und J. W. Dieckert[1]. Mit der Glaspapierchromatographie[2–4] lassen sich auch Gallensäure und deren Ketooxydationsprodukte gut trennen und nachweisen, es genügen 0,1—5 μg. Die R_f-Werte in 3 bzw. 4 Laufmittelsystemen folgender Verbindungen sind in Tabellen aufgeführt: *3,12-Diketocholansäure*; *Lithocholsäure*; *Deshydrocholsäure*; *3 α-Hydroxy-12-ketocholansäure*; *3 α-Hydroxy-7,12-Diketocholansäure*; *Desoxycholsäure*; *3 α, 6 β, 7 β-Trihydroxycholansäure*; *3α,12α-Dihydroxy-7-ketocholansäure*; *3α,6β,7α-Trihydroxycholansäure*; *3α,6α,7β-Trihydroxycholansäure*; *Cholsäure*. Verff. geben ein modifiziertes Verfahren zur Herstellung von Aluminiumoxyd-Glaspapier an.

[1] Arch. Biochem. Biophysics **82**, 203—211 (1959). Tulane Univ. School Med., New Orleans, Louisiana (USA). — [2] Dieckert, J. W., u. N. J. Morris: J. agric. Food. Chem. **6**, 930 (1958). — [3] Dieckert, J. W., N. J. Morris u. A. F. Mason: Arch. Biochem. Biophysics **82**, 220 (1959). — [4] Dieckert, J. W., W. B. Carney, R. L. Ory u. N. J. Morris: Analyt. Chemistry **30**, 1442 (1958).

E. Müller, Würzburg

Eine Methode zur Bestimmung von Cholsäure und Chenodesoxycholsäure nebeneinander im Menschenplasma geben R. H. P. Reid und G. S. Boyd[1] an. Die Trennung der beiden Gallensäuren erfolgt chromatographisch nach J. T. Matschiner, T. A. Mahowald, W. H. Elliott, E. A. Doisy jr., S. L. Hsia und E. A. Doisy[2]. Zur spektrophotometrischen Auswertung benutzen Verff. eine modifizierte Pettenkofer-Probe. — *Ausführung.* 2,0 ml Plasma Gelbsuchtkranker extrahiert man 2 mal mit 25 ml Äthanol und bringt den Äthanolextrakt zur Trockne. Den in 25 ml 0,1 m $NaHCO_3$-Na_2CO_3-Pufferlösung gelösten Rückstand extrahiert man mit der gleichen Menge Leichtpetroleum (60—80°), die Wasserphase gibt man in einen Nickeltiegel, setzt 25 ml 5 n Natronlauge zu, bedeckt und erhitzt 3 Std im Autoklaven bei 110° C. Nach dem Abkühlen macht man mit konz. Salzsäure gegen Lackmus sauer, extrahiert 3 mal mit je 70 ml Chloroform-Äthanol (9:1) und bringt die Extrakte im Vakuum zur Trockne. Den Rückstand nimmt man in Äthanol auf, verdampft zur Trockne, löst in 0,75 ml 70%iger Essigsäure und gießt in 0,75 g Celite, das mit Leichtpetroleum (60—80°) verrührt ist, und gibt das Ganze auf eine Säule aus 4 g Celite. Die Trennung erfolgt nach [2]. Die entsprechenden Fraktionen verdampft man in etwa 8 Std bei 70° C zur Trockne. Man setzt 5,0 ml 70%ige Schwefelsäure und 1,0 ml 0,25%ige Furfuraldehydlösung zu und mißt nach 70 min die Extinktion bei 510 nm. Die Werte entnimmt man Standardkurven. 100 μg Natriumtaurocholat findet man zu 75 $\pm$ 4% wieder.

[1] Biochemic. J. **73**, 9 P (1959). Univ. Edinburgh (Schottland). — [2] J. biol. Chemistry **225**, 771 (1957).

E. Müller, Würzburg

Die papierchromatographische Bestimmung von Gallensäuren im Gallen- und Duodenum-Inhalt führt J. Sjövall[1] durch, indem er die Originalmethode[2] so modifiziert, daß sie sich zur Untersuchung biologischen Materials eignet. — *Arbeitsweise.* Das Papier (Whatman 3MM) muß vorbehandelt werden. Man wäscht es absteigend nacheinander mit 400 ml 96%igem Alkohol, 400 ml 0,5 n Salzsäure, 400 ml Wasser, 400 ml Alkohol, 150 ml Isoamylacetat und 400 ml Alkohol. Diese Prozedur nimmt 3—4 Tage in Anspruch. Unmittelbar vor dem Gebrauch wird der Bogen bei 100° C getrocknet, sonst im Tank belassen und jeden Tag mit 150 ml Äthanol angefeuchtet. Aus den 90 × 465 mm großen Bogen schneidet man 3 15 × 355 mm große Streifen aus, wodurch 4 Bahnen entstehen, die an beiden Enden durch intaktes Papier verbunden sind und auf denen man gleichzeitig chromatographieren kann. Das hat den Vorteil, daß man bei gleichen Testgemischen auf

einem Streifen entwickeln und den Sitz der gesuchten Substanz ermitteln und aus dem anderen eluieren kann. Man chromatographiert mit verschiedenen Systemen bei 23 ± 1° C und zwar: 1. Mobile Phase 70% Äthylenchlorid-Heptan, stationäre Phase 70% Essigsäure-Wasser. Das Papier soll vor Versuchsbeginn 8—16 Std in der Lösungsmittelatmosphäre hängen. Man chromatographiert 6—8 Std aufsteigend. Trennung von *glykokollgebundenen Gallensäuren* in Abwesenheit von *Glykochenodesoxy-* und *Glykodesoxy-Cholsäure*. — 2. 50% Äthylenchlorid-Heptan, stationär wie 1. Einstellung des Papiers wie 1. 18 Std absteigende Chromatographie. Trennung der Glykokoll-gebundenen Gallensäuren, wenn *Chenodesoxy-* und *Desoxycholsäure* vorhanden sind. — 3. 85% Isoamylacetat-Heptan; 70% Ameisensäure-Wasser. Äquilibrierung des Papiers ½ Std in der Atmosphäre der mobilen Phase. 20 Std aufsteigende Chromatographie. Trennung der *Taurocholsäure* von den *tauringebundenen Dihydrocholansäuren*, wenn diese nicht getrennt werden müssen. — 4. 80% Isoamylacetat-Heptan. Stationäre Phase wie 1. Einstellung des Papiers wie 3. 40 Std absteigend chromatographiert. Trennung der *tauringebundenen Dihydroxycholansäuren*. — 5. 40% Äthylenglykol-Heptan. Stationäre Phase wie 1. Einstellung des Papiers wie 1. 6 Std aufsteigend chromatographiert. Trennung *freier Gallensäuren*, wenn *keine Chenodesoxy-* und *Desoxycholsäuren* vorhanden sind. — 6. 20% Äthylenchlorid-Heptan. Stationäre Phase wie 1. Einstellung des Papiers wie 5. 18 Std absteigende Chromatographie. Trennung der *freien Gallensäuren* in Anwesenheit von *Chenodesoxy- und Desoxycholsäuren*. — Der *Nachweis* auf den bei Zimmertemperatur getrockneten Chromatogrammen erfolgt durch Besprühen mit 15%iger alkoholischer Phosphormolybdänsäure-Lösung und Erhitzen auf etwa 80° C. Man eluiert mit spektrographisch reinem Äthanol in der früher beschriebenen[2] Apparatur, dampft bei 100° C zur Trockne ein und nimmt die Proben in 1 ml 65%iger Schwefelsäure auf. Man schüttelt bei verschiedener Temperatur, kühlt ab und mißt die Extinktion in einem Spektrophotometer und zwar: Taurocholsäure, 60 min in Schwefelsäure bei 20° C, Messung bei 320 und 389 nm. Taurochenodesoxycholsäure 15 min, 60° C, 305 und 389 nm. Taurodesoxycholsäure 10 min, 60° C, 308 und 389 nm. Taurochenodesoxycholsäure + Taurodesoxycholsäure, 15 min, 50° C, 305 und 389 nm. Glykocholsäure 60 min, 20° C, 320 und 389 nm. Glykochenodesoxycholsäure 15 min, 60° C, 305 und 389 nm. Glykodesoxycholsäure 10 min, 60° C, 308 und 389 nm. Cholsäure 60 min, 20° C, 320 und 389 nm. Chenodesoxycholsäure 60 min, 60° C, 380 und 310 nm. Desoxycholsäure 60 min, 60° C, 385 und 310 nm.

[1] Clin. chim. Acta (Amsterdam) 4, 652—664 (1959). Univ. Lund (Schweden). — [2] Sjövall, J.: Ark. Kemi 8, 317 (1955). Ursula Baumann

Über die Trennung von Thyroidhormonen und verwandten Verbindungen aus Serum und Geweben mit Anionenaustauscher berichten V. A. Galton und R. Pitt-Rivers[1]. Es handelt sich um eine Modifikation bekannter Verfahren und die Veränderung, die Verff. einführen, besteht hauptsächlich darin, daß sie statt mit Salzsäure mit Essigsäure steigender Konzentration eluieren. Verff. benutzen Dowex-1R1, X2, 200—400 mesh, Cl -Form, in Säulen von 1 cm ⌀ und 3 cm Höhe, die mit Acetatpufferlösung von p_H 5,6 ins Gleichgewicht gebracht sind. Zur Untersuchung gelangen *Serum* und *Nierenhomogenat*, denen die mit ^{131}J markierten Verbindungen zugesetzt sind, oder *Trypsinhydrolysat* der *Schilddrüsen von Mäusen*, denen 4 Std vorher radioaktives Jodid injiziert wurde. Im Eluat erscheinen praktisch quantitativ bei p_H 3,6 Thyreoglobulin, bei 3,0 Monojodtyrosin, bei 2,2 Dijodtyrosin und bei 1,4 Thyroxin sowie Trijodthyronin.

[1] Biochemic. J. 72, 310—313 (1959). Nat. Inst. Med. Res., Mill Hill, London (England). E. Müller, Würzburg

Über die papierchromatographische Trennung einiger Corticosteroide (*Hydrocortison, Aldosteron, Cortison, Corticosteron, Reichsteins Compound S, 11-Dehydrocorticosteron, 11-Desoxycorticosteron, Prednisolon, Prednison)* bei Zimmertemperatur berichtet J. Tuzson[1]. — *Arbeitsweise.* 1—200 μg der Substanzen werden in Methanol gelöst und auf 2 cm breite Streifen Schl. & Sch.-Papier 4043 b aufgetragen. Das Papier wird mit 90%igem Methanol imprägniert, wobei ein 1 cm-Bereich um die Startlinie trocken bleiben soll. Man chromatographiert 2—2,5 Std absteigend bei Zimmertemperatur mit einem Toluol-Äthanol-Petroläther-Wassergemisch (2:6:1:3). (Das Gemisch wird 18 Std vor Gebrauch angesetzt, die organische Phase filtriert und zur Chromatographie verwendet.) Mit einigen Systemen von Bush werden ebenfalls gute Ergebnisse erhalten. Die Chromatographierkammer soll zur Sättigung der Atmosphäre je ein Schälchen des Lösungsmittelgemisches und 90%igen Methanols enthalten und während des Versuchs verschlossen sein. Die Substanzen werden nach der Trennung mit einer alkal. Lösung von Tetrazol-Blau und 15%iger Phosphorsäure nachgewiesen. Die R_f-Werte sind angegeben.

[1] Nature (London) **184**, 1937 (1959). Univ. Med. School, Budapest (Ungarn).

Ursula Baumann

Über die mikroskopische Identitätsprüfung und die Polymorphie der Sexualhormone berichten M. Brandstätter-Kuhnert und A. Kofler[1]. Verff. untersuchen 17 Sexualhormone bzw. synthetische Verbindungen mit analoger Wirkung nach der thermomikroskopischen Methode von L. und A. Kofler[2]. Bei 13 Verbindungen ist die Bestimmung des Schmelzpunktes im Gleichgewicht möglich, bei 2 wachsen die Restkristalle erst nach Unterkühlung weiter (Pseudogleichgewicht), bei einer ist die Kristallisationsgeschwindigkeit zu gering und sie schmilzt unter Zersetzung. Mit Ausnahme von 3 Stoffen, deren Schmelze nicht temperaturbeständig ist, kann bei allen die Lichtbrechung der Schmelze bestimmt werden. Die meisten untersuchten Verbindungen sind polymorph. Die Ergebnisse sind in 2 Tabellen zusammengestellt. Ein Abschnitt ist besonderen Kennzeichen gewidmet.

[1] Mikrochim. Acta (Wien) **1959**, 847—853. Univ. Innsbruck (Österreich). — [2] Thermo-Mikromethoden. Innsbruck: Univ.-Verlag Wagner 1954.

E. Müller, Würzburg

In einer vergleichenden Untersuchung von Methoden zur Corticoidbestimmung im Harn haben R. Raftopoulo, Hj. Staudinger, L. Weissbecker und V. Bauer[1] 4 verschiedene Verfahren geprüft. Es sind dies die Corticoidbestimmungsmethoden von Hj. Staudinger und V. Bauer[2], von C. Chen, J. Wheeler und H. E. Tewell jr.[3] (modifiziert nach[4]), von W. J. Reddy, D. Jenkins und G. W. Thorn[5] sowie von J. K. Norymberski, R. D. Stubbs und H. E. West[6]. Als Routinemethoden für die Klinik werden die kombinierte Staudinger-Chen-Methode (nach Teller und Staib[4]) oder die Methode nach Norymberski[6] empfohlen, da diese sich gegenüber den anderen durch Spezifität, Genauigkeit und Handlichkeit auszeichnen. Es wird geraten, die Corticoide nur in medikamentenfreiem Harn zu bestimmen, da alle 4 Methoden durch die Anwesenheit von Medikamenten gestört werden. Bei Zusatzversuchen wurden bei allen 4 Methoden 95% (Staudinger 90%) der zugegebenen Corticoide wiedergefunden.

[1] Clin. chim. Acta (Amsterdam) **4**, 463—483 (1959). Städt. Krankenanstalten Mannheim u. Karlsruhe. — [2] Klin. Wschr. **32**, 330 (1954). — [3] J. Lab. Clin. Med. **42**, 749 (1953). — [4] Teller, W., u. W. Staib: Acta Endocrinol. **28**, 447 (1958). — [5] Metabolism Clin. and Exp. **1**. 511 (1952); vgl. auch diese Z. **148**, 73 (1955/56). — [6] Lancet **264**, 1276 (1953).

Johanna Sepp

Den nephelometrischen Nachweis von Lipiden in Eluaten bei der Säulenchromatographie beschreibt A. C. Arcus[1]. Die Methode, die verhältnismäßig unspezifisch ist, ist jedoch für eine grobe Bestimmung vieler Lipide im Konzentrationsbereich zwischen 2 und 20 μg brauchbar. Sie beruht darauf, daß die in Methanol gelösten Lipide bei Wasserzugabe Suspensionen bilden, deren Streuung nephelometrisch bestimmt wird. Nachgewiesen werden *Vitamin A-Alkohol-* und *Acetat*, *Calciferol*, *α-Tocopherolacetat*, *Cholesterin*, *Lumisterin*, *Ergosterin*, *β-Sitosterin*, *Cetylalkohol*, *Phytol*, *Stearin-* und *Myristin-Säure*. Es wird erwogen, durch Änderung des Lösungs- bzw. Fällungsmittels auch andere Substanzen, z. B. Steroidhormone zu erfassen.

[1] Analyt. Chemistry **31**, 1618—1620 (1959). Nutrition Res. Dep., Med. School, Dunedin (Neuseeland). Ursula Baumann

Die Analyse von Lipiden mit Hilfe der Radioreagens-Methode beschreibt H. K. Mangold[1]. Das Verfahren besteht darin, daß man in die zu untersuchenden Lipide radioaktive Gruppen einführt und sie damit einer radiometrischen Bestimmung zugänglich macht. Die Fettsäuren werden mit radioaktivem Diazomethan verestert. Lipide, die OH-Gruppen oder NH_2-Gruppen enthalten, werden mit radioaktivem Acetanhydrid acetyliert. Der Analyse hat allerdings eine Fraktionierung vorauszugehen. Die Lipidderivate werden zunächst nach Verbindungsklassen aufgetrennt. So werden die chromatographischen Trennungen von Wachsalkoholen, Mono- und Diglyceriden, Aminen und Hydroxyäthylamiden höherer Fettsäuren beschrieben. Die einzelnen Klassen werden dann weiter in sich durch Verteilungschromatographie an Kieselsäure aufgetrennt. Daneben werden papierchromatographische und dünnschicht-chromatographische Verfahren für die Auswertung angeführt.

[1] Fette u. Seifen **61**, 877—881 (1959). Univ. Austin, Minnesota (USA).
L. Acker

Die Trennung und Bestimmung von Vitamin B_1, B_{12} und Adenosin-5-monophosphorsäure in Gemischen gelingen nach Untersuchungen von C. S. Tauro und G. F. Di Paco[1] mit Hilfe an sich bekannter Methoden unter Anwendung der Adsorption des Cyanocobalamin und der Adenosinphosphorsäure an Aktivkohle und Ionenaustauscherharz. — *Durchführung.* 2 ml des die 3 Verbindungen enthaltenden Präparats behandelt man im Becherglas mit 25 mg Aktivkohle (Norit SX 1). Nach einigen Minuten filtriert man durch einen Glasfiltertiegel (1 G 3). Das Filtrat soll nicht mehr rötlich sein. Den Filterrückstand wäscht man 3mal mit je 20 ml dest. Wasser und vereinigt die 3 Filtrate. Die das *Vitamin* B_{12} zurückhaltende Aktivkohle eluiert man 3mal mit je 15 ml 95%igem Äthanol in einen 50 ml-Meßkolben, füllt mit Äthanol zur Marke auf und bestimmt bei 361 nm spektrophotometrisch gegen Äthanol die optische Dichte. $E_{1\,cm}^{1\,\%} = 207$. Der Vitamin-Gehalt in Milligramm/2 ml errechnet sich aus der Formel (50 · abgelesene Extinktion) $207 \cdot 10^{-3}$. — *Vitamin* B_1. Das wäßrige Filtrat verdünnt man im Meßkolben auf 1000 ml. Dieser Lösung entnimmt man genau 10 ml und fügt in einem Scheidetrichter mit Schliffstopfen 10 ml Reagens zu, das man kurz vor Gebrauch durch Vermischen von 9 Vol. 20%iger Natronlauge mit 1 Vol. 1%iger Kaliumhexacyanoferrat(III)-lösung herstellt. Man verfährt, wie dies für die übliche Vitamin B_1-Bestimmung erforderlich ist. 1 min nach dem Vermischen der Flüssigkeit im Scheidetrichter setzt man 70 ml Isobutylalkohol zu und schüttelt kräftig 2 min lang. Hierauf wartet man die Phasentrennung ab und entnimmt die Isobutanol-Phase, die man mit etwa 500 mg entwässertem Natriumsulfat trocknet und vorsichtig in eine 1 cm-Küvette des Spektrophotometers überträgt. Die

wäßrige Phase wird aufgehoben. Man ermittelt die Extinktion bei 370 nm gegen ebenso behandeltes Isobutanol. Die gefundene Extinktion mit 210 multipliziert ergibt die in 2 ml Präparat enthaltene Menge Vitamin B_1 in Milligramm. — *Adenosin-5-monophosphat.* Das zur Trocknung der Isobutanollösung benutzte Natriumsulfat wäscht man 3 mal mit etwas Äther zur Beseitigung von Spuren des Isobutanols und löst es in möglichst wenig Wasser auf. Diese Lösung fügt man der wäßrigen Phase zu, die man nun vorsichtig mit etwa 10 ml 20%iger Schwefelsäure bis zu p_H 4—4,3 ansäuert. Etwa 2 g Anionenaustauscherharz (Amberlite I R 400), das mit 5 ml 0,1 n Natronlauge 30 min lang aktiviert, filtriert und bis zur neutralen Reaktion gegen Phenolphthalein mit Wasser gewaschen wird, verwendet man zur Herstellung einer Säule, durch die man die saure, Adenosin-5-monophosphorsäure enthaltende Lösung fließen läßt. Mit 100 ml dest. Wasser wäscht man nach, eluiert anschließend mit 5%iger Salzsäure und füllt damit zur Marke auf. Von dieser Lösung bestimmt man bei 260 nm die Absorption gegen 5%ige Salzsäure. Die Menge Adenosin-5-monophosphorsäure in Milligramm/2 ml errechnet sich aus $(25 \cdot \text{abgelesene Extinktion})/416 \cdot 10^{-3}$, wobei $E_{1\,cm}^{1\,\%} = 416$ ist). Die gewonnenen Ergebnisse sind sehr befriedigend.

[1] Boll. chim. farmac. **98**, 460—463 (1959). Lab. Ricerche Guidotte & C., Pisa (Italien). H. Freytag

Die zur Bestimmung von L-Ascorbinsäure in biologischem Material vorgeschlagenen Methoden wurden von J. Gvozdjak, T. R. Niederland und M. Dornetzhuberová[1] kritisch-theoretisch begutachtet. Sie gelangen zu der Folgerung, daß sich die Dinitrophenylhydrazin-Methoden durch besondere Selektivität auszeichnen. Die darauf beruhenden Bestimmungsverfahren wurden experimentell hinsichtlich ihrer Genauigkeit verglichen. Die Adsorption der L-Ascorbinsäure durch Aktivkohle, Norit und Celit sowie die Wirkung der Extraktionsmittel (Trichloressigsäure und Metaphosphorsäure) unter verschiedenen Bedingungen wurden untersucht. Als zweckmäßigste Methode erweist sich die von J. H. Roe und C. A. Kuether[2] in der Modifikation von R. R. Schaffert und G. R. Kingsley[3]. Folgende Arbeitsweise wird empfohlen: Man versetzt 150 bis 200 mg des zu untersuchenden *Gewebes* mit 2—3 ml 6%iger Trichloressigsäure in einem kleinen Kolben, zerreibt gründlich mit einem Glasstab und dekantiert die Flüssigkeit durch Filterpapier in einen Meßkolben entsprechenden Volumens je nach der zu erwartenden L-Ascorbinsäuremenge. Man fügt erneut 2—3 ml Trichloressigsäurelösung dem Gewebebrei zu und dekantiert nach einigen Minuten in den Meßkolben. Diese Extraktion wird 7—8 mal wiederholt. Hierauf füllt man den Meßkolben mit der Trichloressigsäure bis zur Marke auf, vermischt, setzt 0,5 Norit zu, schüttelt gründlich durch und filtriert nach 5 min. 4 ml des Filtrats versetzt man in einem Reagensglas mit 2 Tr. Thioharnstofflösung (5 g in 25 ml Äthanol, mit Wasser zu 50 ml ergänzt und filtriert. Schwach rosa gefärbte Kaliumpermanganatlösung muß durch 2—3 Tr. sofort gelb gefärbt werden). Man schüttelt um und versetzt mit 1 ml Reagens (2%ige, filtrierte Lösung von 2,4-Dinitrophenylhydrazin in 9 n Schwefelsäure), vermischt und erhitzt im siedenden Wasserbad. Nach genau 10 min kühlt man im Eisbad ab und tropft 5 ml 85%ige Schwefelsäure zu. Man rührt gut um, läßt bei Raumtemperatur 20 min stehen und photometriert dann bei 540 nm (Grünfilter) gegen eine Blindlösung (die statt des Filtrates 4 ml 6%ige Trichloressigsäure enthält). Die Auswertung erfolgt an Hand einer gleichartig erhaltenen Eichkurve (0,005—0,06 mg L-Ascorbinsäure/4 ml). — Bei *Blut* und *Harn* entfällt die Extraktion. Das Blut verdünnt man auf das 4-, den Harn auf das 20fache mit der Trichloressigsäurelösung. Nach Noritzusatz

und Umschütteln filtriert man und verwendet 4 ml zur Weiterverarbeitung wie beschrieben.

[1] Lekársky Obzor **8**, 434—440 (1959) [Slowakisch]. (Mit dtsch. Zus.fass.) Inst. f. allgem. u. klin. Biochem. Bratislava (ČSR). — [2] J. biol. Chemistry **174**, 201 (1948). — [3] J. biol. Chemistry **212**, 59 (1955); vgl. diese Z. **151**, 222 (1956).

H. Freytag

Eine spektrofluorometrische Bestimmung der Tocopherole im Plasma gibt D. E. Duggan[1] an. Die Tocopherole, jedoch nicht ihre Ester, zeigen bei Anregung mit UV-Licht von 295 nm eine intensive Fluorescenz. — *Arbeitsvorschrift.* 2,0 ml Blutplasma versetzt man in einem 40 ml-Zentrifugenglas mit 2,0 ml Wasser, 4,0 ml Alkohol (absol. Alkohol über KOH destilliert) und nach Vermischen mit 8,0 ml Hexan (Hexan wird mit konz. Schwefelsäure behandelt, bis die Säure farblos bleibt, dann gewaschen mit verdünntem Alkali und Wasser, getrocknet und nach Durchlaufen durch eine Säule aus Silicagel destilliert). Zu weiteren 2,0 ml Plasma gibt man ein kleines Volumen einer alkoholischen Stammlösung von äquimolaren Mengen von α-Tocopherol und Tocopherolacetat (~0,05 μMole) und nach Vermischen die oben angegebenen Lösungsmittel. Man verschließt die Gläser mit Glasstopfen (Silicon als Dichtungsmittel), schüttelt 10 min auf einer Schüttelmaschine und zentrifugiert. Für die Bestimmung von Tocopherol entnimmt man 1,0 ml der organischen Phase, verdünnt mit 3 Vol Alkohol und mißt die Fluorescenz bei 340 nm unter Aktivierung mit Licht von 295 nm. Zur Bestimmung von Tocopherolacetat werden 4,0 ml der organischen Phase unter Stickstoff zur völligen Trockne eingedampft. Der Rückstand wird in 4,0 ml Hexan gelöst, in Eis gekühlt und mit 1,0 ml $LiAlH_4$-Reagens (20 ml frisch dest. Äther werden mit 200—300 mg $LiAlH_4$ geschüttelt und durch Glaswolle filtriert) behandelt. Nach 5 min Schütteln wird 1,0 ml eiskalter Alkohol vorsichtig zugefügt, darauf 1 Vol 0,1 n Schwefelsäure. Nach Verschließen werden die Gläser wie oben geschüttelt. Ein kleiner aliquoter Teil der klaren organischen Phase wird mit 3 Vol Alkohol verdünnt und die Fluorescenz wie oben gemessen. Eine Standardlösung aus einem geeigneten Volumen der α-Tocopherol- und Tocopherolacetatstammlösung kann als Kontrolle des inneren Standards mitgeführt werden. Ansätze mit reinem Wasser sind für den Blindwert erforderlich. — *Berechnung.* μMole freies Tocopherol/ml Plasma $= [X_A/(S_A - X_A)] \cdot (\mu M\,S/2{,}0)$. X_A und S_A sind die Fluorescenzintensitäten (nach Abzug des Blindwertes) für die Probe ohne bzw. mit innerem Standard, $\mu M\,S$ sind Mikromole an freiem Tocopherol im inneren Standard. μMole Gesamttocopherol/ml Plasma $= [X_B/(S_B - X_B)] \cdot (\mu M\,S/2{,}0)$, wo X_B und S_B die entsprechenden Fluorescenzintensitäten der mit $LiAlH_4$ behandelten Proben ohne bzw. mit innerem Standard bedeuten. $\mu M\,S$ ist die Gesamtzahl der Mikromole von Tocopherol und Tocopherolacetat, die als innerer Standard beigegeben sind. — Die Fluorescenz ist im Bereiche von 0,01 μg ml bis 10 μg/ml der Konzentration direkt proportional. Die Methode ist sehr empfindlich und außerdem spezifisch, da Vitamin A und andere fettlösliche reduzierende Stoffe nicht stören. Nachteilig ist jedoch der Umstand, daß die einzelnen Tocopherole unterschiedliche Intensitäten der Fluorescenz zeigen.

[1] Arch. Biochem. Biophysics **84**, 116—122 (1959). Nat. Heart Inst., Bethesda, Md. (USA). L. Acker

Über die Elektrophorese von Hämoglobin in flüssiger Phase bei geringer Ionenstärke berichtet J. Reynaud. In einer ersten Arbeit[1] befaßt sich Verf. mit den Unregelmäßigkeiten des Ionengleichgewichtes am Ende der Dialyse. Durch Leitfähigkeitsmessungen ermittelt er die Dialysengleichgewichte zwischen menschlichem CO- und O_2-Hämoglobin A und verschiedenen Pufferlösungen. Nach

eingehenden Untersuchungen, die mit Tabellen und Kurven belegt sind, kommt Verf. zu dem Ergebnis, daß hier Abweichungen vom Donnan-Gleichgewicht vorliegen, die von der Ionenstärke und der Eiweißkonzentration abhängig sind. Diese Störungen verschwinden bei $p_H \geqq 8{,}6$ und nehmen mit der Wertigkeit der Ionen zu. Sie scheinen auf einer Reaktion der Proteine mit den Pufferanionen zu beruhen.

In einer zweiten Arbeit unterzieht J. Reynaud[2] diese Abweichungen weiteren Untersuchungen. Bei der *Elektrophorese* (2° ± 0,02° C) *von menschlichem CO- und O_2-Hämoglobin A* treten *Störungen* auf, wenn die Ionenkonzentration schwach ist. Diese Störungen bezeichnet Verf. als „ζ-Anomalie". Er untersucht, welchen Einfluß die Ionenstärke, die Eiweißkonzentration, der p_H-Wert und die Anionenwertigkeit auf diese Anomalie haben. Alle 4 Größen können das Verhalten von Eiweiß gegenüber Anionen der Pufferlösung beeinflussen. Die Untersuchungen sind ausführlich beschrieben, mit Kurven sowie Tabellen versehen, und die Befunde werden durchgerechnet und besprochen.

[1] Reynand, J.: Bull. Soc. Chim. biol. **41**, 437—447 (1959). Lab. Municipal, Marseille (Frankreich). — [2] Bull. Soc. Chim. biol. **41**, 449—467 (1959).

E. Müller, Würzburg

Zur spektrophotometrischen Bestimmung von Kohlenoxydhämoglobin (COHb) im Blut neben Oxyhämoglobin (O_2Hb) und Hämoglobin (Hb) arbeitet V. V. Popov[1] 4 Varianten aus. — *Arbeitsweise.* 0,08 ml Blut verdünnt man mit 5,92 ml 0,005 n Natronlauge. 1. Ausnutzung des Unterschiedes der Absorption von COHB und Hb: Man bestimmt in einer 10 mm-Küvette bei 534 nm E_1, das den Sättigungsgrad des Blutes mit CO charakterisiert. Dann reduziert man in 6 ml Lösung O_2Hb mit 5 mg $Na_2S_2O_4$ und mißt E_2 bei 563 nm, E_2 charakterisiert den Gesamthämoglobingehalt. Der COHb-Gehalt in Prozent errechnet sich dann nach $x = 100 \cdot (E_1 - 0{,}71\ E_2)/0{,}30\ E_2$. 2. Unterschied COHb und O_2Hb: E_1 mißt man bei 564 nm, E_2 bei 575,5 nm. Der Prozentgehalt an COHb ist dann $x = 100 \cdot (E_1 - 0{,}64\ E_2)/0{,}28\ E_2$. Da die Unterschiede der Lichtabsorption von COHb, O_2Hb und Hb im kurzwelligen Bereich des Spektrums größer sind, können auch 2 andere Varianten angewendet werden. 3. Unterschied COHb und Hb: Zuerst bestimmt man E_2 wie oben, verdünnt die Lösung mit 0,005 n Natronlauge oder Wasser auf das 10fache oder mißt in einer 1 mm-Küvette, und bestimmt E_1 bei der Wellenlänge des Maximums im kurzwelligen Bereich (400—440 nm). Der COHb-Gehalt wird nach $x = 100 \cdot (E_1 - 1{,}07\ E_2)/0{,}33\ E_2$ errechnet. 4. Unterschied COHb und O_2Hb: Man verfährt ähnlich wie bei 3. und berechnet nach $x \quad 100 \cdot (E_1 - 0{,}99\ E_2)/0{,}36\ E_2$. Für die Messungen wurde ein automatisch registrierendes Spektrophotometer SF-2M benutzt. Es lassen sich so COHb-Gehalte von 0—35% mit einer Genauigkeit von ± 2% bestimmen.

[1] Lab. Delo **5**, Nr. 5, 25—30 (1959) [Russisch]. Medizin. Inst. Lvov (UdSSR).

K. Hertzog

Zur halbquantitativen Koproporphyrinbestimmung im Harn nach Ja. B. Reznik und G. M. Fedorov[1] empfiehlt G. M. Fedorov[2] die Verwendung eines UV-Flüssigkeitsfilters aus Fuchsin- und $CuSO_4$-Lösung. — *Arbeitsweise.* 5 ml Harn säuert man mit 1—2 Tr. Eisessig gegen Lackmus an, versetzt mit 5 ml Äther und schüttelt aus. Die Ätherschicht fluoresciert unter der UV-Lampe intensiv rosa. Die UV-Filterflüssigkeit stellt man durch Lösen von 0,03 g Fuchsin in 500 ml Wasser und Zugabe von 45 g $CuSO_4 \cdot 7\,H_2O$ dar. Die Schichtdicke des Filters soll 6—7 cm betragen. Das Filter ist durchlässig für UV-Licht von 360 nm.

[1] Vrač. Delo **1955**, Nr. 10, 977. — [2] Lab. Delo **5**, Nr. 3, 35—36 (1959) [Russisch]. Lehrstuhl f. Arbeitshygiene, Med. N. I. Pirogov-Inst. Odessa. K. Hertzog

Zur orientierenden Bestimmung des Bilirubingehaltes von Blut läßt man nach I. P. Zinoveva[1] einen Tropfen (0,03 ml) in Gegenwart von Natriumoxalat abzentrifugierten Blutplasmas auf einem Stück Filtrierpapier eintrocknen. Es bildet sich ein besonders am Rand gelber Fleck, dessen Farbintensität vom Bilirubingehalt abhängig ist und mit einer Standardskala verglichen werden kann. Man kann auch 3 Tr. Zentrifugat auf einen dünn paraffinierten Objektträger bringen und die Gelbfärbung mit der von Standardproben vergleichen.

[1] Lab. Delo 5, Nr. 5, 19—21 (1959) [Russisch]. Wiss. Forschungsinst. f. Geburtshilfe und Gynäkologie des Min. f. Gesundheitswesen der RSFSR, Moskau. K. Hertzog

Methoden zur Bestimmung von Kynurenin, o- und p-Aminobenzoesäure, 3-Hydroxyanthranilsäure und o-Aminophenol im Harn gibt S. L. Tompsett[1] an. Die Verbindungen sind großenteils Tryptophanstoffwechselprodukte. Da die Gesamtmenge jeder einzelnen Substanz, frei und gebunden, bestimmt werden soll, wird die Harnprobe hydrolysiert. — Bei der *Bestimmung von Kynurenin* handelt es sich um eine Modifikation der Methode von M. Špaček[2], bei der Kynurenin durch Natronlauge in o-Aminoacetophenon verwandelt und im Destillat nach Diazotierung und Kupplung photometriert wird[3]. — *Ausführung.* 10 ml Harn hydrolysiert man mit 1 ml 10 n Salzsäure 1 Std im siedenden Wasserbad. In den 100 ml-Destillierkolben einer Ganzglasapparatur gibt man 10 ml hydrolysierten Harn, 30 ml Wasser und 5 g Natriumhydroxyd und sammelt 20 ml Destillat. 10 ml Destillat versetzt man mit 0,2 ml 10 n Salzsäure, 1 ml 0,1%iger Natriumnitritlösung, nach 5 min mit 1 ml 0,5%iger Ammoniumsulfamatlösung und abermals nach 5 min mit 1 ml 0,1%iger N-(1-Naphthyl)-äthylendiamindihydrochloridlösung. Nach 2 Std mißt man die Extinktion bei 540 nm gegen einen Blindwert. Standardansätze mit 25, 50 und 100 μg Kynurenin laufen mit. Von 10—200 μg ist die Extinktion eine lineare Funktion der Konzentration. Mit der Methode findet man im Harn 89—98% zugesetztes Kynurenin wieder. o- und p-Aminobenzoesäure, o- und p-Aminophenol, Tryptophan, Indolessigsäure, β-(3-Indol)-propionsäure, Phenacetin, p-Phenetidin und 3-Hydroxykynurenin geben unter diesen Bedingungen keine flüchtigen, diazotierbaren Amine. Aus Indol entstehen aber solche Amine; ihre Menge ist im normalen Harn zu gering, um Fehler zu verursachen, erhebliche Mengen treten aber bei malignen Blasenkrankheiten auf, wahrscheinlich infolge Eiterung. — Für die *Bestimmung von o- und p-Aminobenzoesäure* müssen störende Substanzen erst mit Äther aus dem stark sauren Hydrolysat extrahiert werden, bis die beiden Säuren bei p_H 3,0 mit Äther extrahiert werden können. Das Prinzip der Bestimmung beruht auf der Beobachtung, daß mit p-Aminobenzoesäure das Extinktionsmaximum 15 min nach Kupplung auftritt, während das bei der o-Säure erst nach 2 Std der Fall ist. — *Ausführung.* 10 ml hydrolysierten Harn (siehe oben) extrahiert man 4mal mit je 40 ml Äther, indem man jedesmal 2 min in einem 50 ml-Mischzylinder kräftig schüttelt und den Äther verwirft. Nach Zugabe von 0,5 g Glycin stellt man mit 1 n Natronlauge auf p_H 3,0 ein und extrahiert durch 2 min langes Schütteln in einem 100 ml-Mischzylinder mit 80, 40 und 40 ml Äther. Zum Ätherverdampfungsrückstand gibt man 10 ml Wasser, 0,2 ml 10 n Salzsäure, 1 ml 0,1%ige Natriumnitritlösung, nach 5 min 1 ml 0,5%ige Ammoniumsulfamatlösung und wieder nach 5 min 1 ml 0,1%ige N-(1-Naphthyl)-äthylendiamindihydrochloridlösung. Gegen einen Blindansatz mißt man die Extinktion 15 und 120 min nach Zugabe des Kupplungsreagens bei 540 nm. Gleichzeitig laufen Standardansätze mit 10, 20 und 40 μg p-Aminobenzoesäure und 20, 40 und 80 μg o-Aminobenzoesäure mit, aus deren Extinktion man die Probenwerte errechnet. Die beiden zum Harn zugesetzten Säuren findet man zu 79—91% wieder. — Die *o-Hydroxyamine* werden mit 2,6-Dichlorchinonchlorimid bestimmt. Nach Extraktion störender Substanzen bei stark saurer Reaktion mit Äther läßt sich 3-Hydroxyanthranilsäure

bei p_H 3,0 und o-Aminophenol bei p_H 7,0 mit Äther extrahieren. — *Ausführung. 3-Hydroxyanthranilsäure.* 10 ml Harnhydrolysat extrahiert man wie oben mit Äther, versetzt mit 1 ml gesätt. Natriumacetatlösung und stellt mit 1 n Natronlauge auf p_H 3,0 ein. Mit 40, 20 und 20 ml Äther extrahiert man wie oben und versetzt den Ätherverdampfungsrückstand mit 5 ml Boratpufferlösung von p_H 7,6 (3,1 g Borsäure, 6,2 g Kaliumchlorid, 100 g Natriumchlorid, 4 ml 1 n Natronlauge mit Wasser auf 1 l auffüllen) sowie mit 0,5 ml einer 0,4%igen Lösung von 2,6-Dichlorchinonchlorimid in Äthanol. Nach 5 min schüttelt man 2 min kräftig mit 5 ml n-Butanol, läßt absetzen und mißt möglichst schnell in der Butanolphase die Extinktion gegen n-Butanol bei 600 nm. Ein Blindansatz und Standardansätze mit 20, 50 und 100 μg 3-Hydroxyanthranilsäure laufen mit. Die zugesetzte Säure findet sich zu 79–91% im Harn wieder. — *o-Aminophenol.* Eine weitere, wie oben behandelte Harnprobe (p_H 3.0) versetzt man mit festem Natriumhydrogencarbonat bis p_H 7,0 erreicht ist und extrahiert mit 40, 20 und 20 ml Äther wie oben. Die vereinigten Ätherextrakte versetzt man mit 6 Tr. 10 n Salzsäure und bringt in einer Ganzglasapparatur zur Trockne. Den Rückstand löst man in 5 ml Natriumhydrogencarbonatlösung von p_H 7,9 (vor Gebrauch stellt man eine gesätt. Natriumhydrogencarbonatlösung mit 0,1 n Salzsäure unter Verwendung einer Glaselektrode auf p_H 7,9) und fügt 0,5 ml Chlorimidreagens (siehe oben) hinzu. Nach 5 min schüttelt man 2 min kräftig mit 5 ml n-Butanol und mißt möglichst schnell nach Absetzen in der Butanolphase die Extinktion bei 600 nm gegen Butanol. Ein Blindansatz und Standardansätze mit 10, 20 und 50 μg o-Aminophenol laufen mit. Von zugesetztem o-Aminophenol findet man im Harn 82–91% wieder. Eine Bestimmungsmethode für *p-Aminophenol* ist früher von Verf. angegeben[4].

[1] Clin. chim. Acta (Amsterdam) **4**, 411–419 (1959). Univ. Edinburgh (Schottland). — [2] Canad. J. Biochem. Physiol. **32**, 604 (1954). — [3] Bratton, A. C., u. E. K. Marschall jr.: J. biol. Chemistry **128**, 537 (1939); vgl. auch diese Z. **137**, 69 (1952/53). — [4] Tompsett, S. L.: Clin. chim. Acta (Amsterdam) **3**, 149 (1958); vgl. diese Z. **166**, 233 (1959). E. Müller, Würzburg

Über die Identifizierung von 5-Hydroxytryptamin in Mollusken berichten J. H. Welsh und M. Moorhead[1]. Das in früheren[2] Untersuchungen durch Papierchromatographie qualitativ festgestellte 5-Hydroxytryptamin wurde mit Hilfe von spektrofluorimetrischen Methoden[3] quantitativ bestimmt.

[1] Science **129**, 1491–1492 (1959). Harvard Univ., Cambridge, Mass. (USA). — [2] Welsh, J. H.: Federation Proc. **13**, 162 (1954). — [3] Bowman, R. L., P. A. Caulfield u. S. Udenfriend: Science **122**, 32 (1599); — Udenfriend, S., u. Mitarb.: J. biol. Chemistry **215**, 337 (1955); vgl. diese Z. **151**, 455 (1956); Science **122**, 972 (1955). — Bodanski, D. F., u. Mitarb.: J. Pharmacol. exp. Therapeut. **117**, 82 (1956). H. Garschagen

Ein spektrophotometrisches Verfahren zur Bestimmung von Meperidin(I) und Nor-Meperidin(II) in biologischem Material beschreibt L. Kazyak[1]. — *Arbeitsweise.* Man alkalisiert Urin oder homogenisiertes Gewebe mit gesätt. Natron- oder Kalilauge auf p_H 9 oder darüber und schüttelt das Analysenmaterial mindestens mit der 5fachen Menge Äthylendichlorid, das man vorher mit $^1/_{10}$ seines Volumens 0,5 n Schwefelsäure und anschließend 1–2mal mit Wasser ausgewaschen und durch Whatman-Papier Nr. 41 filtriert hat 5 min lang aus. Den Extrakt filtriert man, schüttelt ihn mit 0,066 m Dinatriumphosphatlösung (p_H 8,5) aus und filtriert erneut bzw. zentrifugiert mit 3000 U/min, bis eine völlig klare Lösung vorliegt. Nun schüttelt man einen möglichst großen aliquoten Teil des Äthylendichloridauszuges mit $^1/_{10}$ des Volumens 0,5 n Schwefelsäure aus und ermittelt die UV-Absorption des Säureauszuges zwischen 300 und 230 nm. I und II besitzen das gleiche UV-Absorptionsmaximum bei 257–258 nm (Absorptionsdiagramme im

Original). Sollten bei der Messung störende Absorptionen von Begleitstoffen auftreten, so alkalisiert man einen aliquoten Teil des Schwefelsäureauszuges durch tropfenweisen Zusatz von gesätt. Natron- oder Kalilauge auf p_H 10, schüttelt ihn mit dem 5fachen Volumen Äther aus, filtriert den Auszug, extrahiert mit 3 oder 4 ml 0,5 n Schwefelsäure und wiederholt die Messung, nachdem man vorher durch vorsichtiges Erwärmen den gelösten Äther restlos entfernt hat (Berechnung im Original). — Für den *qualitativen Nachweis* von I eignet sich das Pikrat, das in charakteristischen dendritenartigen Formen kristallisiert (Mikrophoto im Original). Im Original ist weiterhin die Bearbeitung eines *forensischen Falles* von I-Vergiftung beschrieben.

[1] J. forensic Sci. 4, 264—275 (1959). Walter Reed Army Med. Center, Washington D. C. (USA). K. Söllner

Den Nachweis von Chinolinderivaten im Urin normaler Kaninchen und Schweine führen J. K. Roy und J. M. Price[1] durch, nachdem sie den Harn an Austauscherharzen getrennt haben. In der Hauptsache finden sie *Kynurensäure*, *Xanthurensäure* in kleineren Mengen. Außerdem enthält der Schweineharn geringe Mengen *8-Methyl-Xanthurensäure* und *6-Hydroxykynurensäure*. Aus dem Kaninchenharn konnte *6-Hydroxychinaldinsäure* (tägliche Ausscheidung 10,4 bis 19,9 µmol/Tier) kristallisiert isoliert werden. *Chinaldylglykokoll* wurde spektroskopisch und chromatographisch nachgewiesen, jedoch nicht isoliert. — *Arbeitsweise.* Die zur Trennung verwendeten Austauscherharze müssen vorbehandelt werden und zwar Dowex 50 (H^+) und 1 ($HCOO^-$) nach der Methode von J. M. Price[2] und Lindenblad u. Mitarb.[3]. Dowex 2 ($HCOO^-$) und 2 (CH_3COO^-) (200—400 mesh, 10% Vernetzung) durch Auswaschen der Chlorionen mit einer 2 m Lösung des Natriumsalzes der jeweiligen Säure bis zur negativen Chlorreaktion, dann mit $^1/_3$ des Volumens der entsprechenden 2 n Säure. Der gesammelte Urin wird mit 0,2 n Salzsäure angesäuert und durch eine Dowex 50 (H^+)-Säule (23,0 × 7,0 cm) geschickt. Die Säule wird dann nacheinander mit 10 l 0,2 n Salzsäure, 10 l 0,5 n Salzsäure und 1,5 l Wasser ausgewaschen. Die Waschflüssigkeiten werden verworfen. Dann wäscht man mit 90 l Wasser aus und leitet dieses direkt auf eine Dowex 1 ($HCOO^-$)-Säule (13,0 × 4,5 cm). Bei dieser Prozedur werden Kynuren-, Xanthuren-, 8-Hydroxychinaldin- und 6-Hydroxykynuren-Säure sowie Chinaldylglykokoll und die Xanthurensäureester quantitativ, außerdem eine kleine Menge Chinaldinsäure eluiert. Um den Rest Chinaldinsäure auszuwaschen, benutzt man weitere 40 l Wasser und leitet diese ebenfalls auf eine Dowex 1 ($HCOO^-$)-Säule, die etwas kleiner als die erste sein soll. Die größere Formiatkolonne wird dann mit je 2 l 6 n und 12 n, die kleinere mit 2 l 12 n Ameisensäure ausgewaschen und die Eluate unter vermindertem Druck zur Trockene eingedampft. Zur *Trennung der Substanzen* werden diese auf eine Dowex 2 (CH_3COO^-)-Säule (20 × 1,6 cm) aufgebracht und entweder mit Ameisensäure (500 ml Wasser im Mixer, 12 n Ameisensäure im Vorratsgefäß, 200 4,5 ml-Fraktionen in 20 Std) oder mit Essigsäure (500 ml 3 n Essigsäure im Mixer, 13 n Essigsäure im Vorratsgefäß, 200 4,5 ml-Fraktionen in 24 Std) fraktioniert eluiert. Bei der Ameisensäure enthalten Fraktion 21—36 Chinaldinsäure, 69—80 Chinaldylglykokoll, 80—94 6-Hydroxykynurensäure, 90—108 8-Hydroxychinaldinsäure, 98—110 Kynurensäure und 145—158 Xanthurensäure. Mit Essigsäure erhält man in Fraktion 18—30 Chinaldinsäure, in 64—80 Chinaldylglykokoll und in 110—132 8-Hydroxychinaldinsäure. Kynuren- und 6-Hydroxykynuren-Säure erscheinen zusammen in 150—190, Xanthurensäure bleibt auf der Säule haften. Die Fraktionen werden zur Identifizierung papierchromatographisch aufgearbeitet unter Verwendung des Systems von M. Mason und C. P. Berg[4], dem für je 100 ml 1 ml Eisessig, Ameisensäure oder 15 n Ammoniak zugesetzt werden oder des von C. E. Dalgliesh[5] benutzten Flüssigkeitsgemisches Butanol-Essigsäure-Wasser (4:1:5). Die Flecken werden mit 50%igem Äthanol eluiert und

die UV-Spektren der Substanzen in 0,1 m Phosphatpuffer bei p_H 2,0, 7,4 und 12,0 aufgenommen.

[1] J. biol. Chemistry **234**, 2759—2763 (1959). Cancer Res. Hosp., Univ. of Wisconsin, Med. School, Madison. — [2] J. biol. Chemistry **211**, 117 (1954). — [3] LINDENBLAD, G. E., M. KAIHARA u. J. M. PRICE: J. biol. Chemistry **219**, 893 (1956). — [4] J. biol. Chemistry **188**, 783 (1951). — [5] Biochemic. J. **52**, 3 (1952); vgl. diese Z. **158**, 157 (1957). URSULA BAUMANN

Zur spektrophotometrischen Bestimmung von Harnsäure in Serum und Urin mit Hilfe von Uricase wird von S. K. WADMAN[1] die von E. PRAETORIUS[2] beschriebene Methode, welche auf der Überführung von Harnsäure in Allantoin und Bestimmung der durch Harnsäure bedingten Absorption bei 293 nm beruht, geringfügig modifiziert. — *Arbeitsweise. Serum.* 1. In der 1 cm-Quarzküvette eines Spektralphotometers (Beckman-Modell DU) vermischt man 3,00 ml Pufferlösung p_H 9,3 (5,0 g Glykokoll 3,9 g Natriumchlorid + 0,55 g Natriumhydroxyd/1000 ml; unter Umständen mit 0,1 n Natronlauge auf p_H 9,3 korrigieren) mit 0,02 ml Uricaselösung (der Inhalt einer Ampulle „Leo" wird in 0,5 ml vorstehender Pufferlösung gelöst) und mißt die Extinktion bei 293 nm gegen die Pufferlösung (= $E1$). 2. Außerdem photometriert man ein Gemisch aus 2,90 ml Pufferlösung und 0,10 ml Serum gegen eine Bezugslösung aus 3,00 ml Pufferlösung und 0,08 ml Serum (= $E2$). 3. In die Küvette, welche 0,10 ml Serum enthält, gibt man 0,02 ml Uricaselösung, mischt und bestimmt die Extinktion bei 293 nm, wenn ein konstanter Endwert erreicht ist ($E3$). Bei einem Harnsäuregehalt von 20 und 50 μg hat sich nach 20 bzw. 45 min eine konstante Extinktion ausgebildet. Milligramm Harnsäure/100 ml Serum $= \Delta E \cdot 40$; $\Delta E = E1 + E2 - E3$. — *Urin.* Nach Verdünnen auf das 10fache wird die Bestimmung wie bei Serum durchgeführt. Bei der Messung von $E2$ kann direkt gegen die Pufferlösung photometriert werden. — Die Standardabweichung beträgt 0,12 und 0,94 mg Harnsäure/100 ml bei Serum bzw. Urin.

[1] Pharmac. Weekbl. **94**, 425—456 (1959) [Holländisch]. Klin.-chem. Lab., Zuiderziekenhuis, Rotterdam (Holland). — [2] Scand. J. Clin. Lab. Invest. **1**, 222 (1949). H. GARSCHAGEN

Über die Isolierung, den Nachweis und die Bestimmung markierter Gewebsnucleotide in Mikrogramm-Mengen berichten K. K. TSUBOI und T. D. PRICE[1]. Zur Aufarbeitung gelangen Rattenorganhomogenate in 0,25 n Perchlorsäure, nachdem 1 Std vorher in vivo mit radioaktivem Phosphat inkubiert wurde. Um die Nucleotide von Begleitstoffen zu trennen, werden sie an Norit A adsorbiert und mit einer 10%igen Pyridinlösung in Wasser oder in 50%igem Äthanol eluiert. Die Auftrennung der Nucleotide erfolgt dann mit zweidimensionaler Papierchromatographie. Für das Sichtbarmachen und Auswerten benutzen Verff. UV-Fluorescenz, Radioautographie und UV-Photographie. Als Ausgangsmaterial genügen 1 g Gewebe und weniger, und es lassen sich < 1 μg Nucleotid/cm^2 nachweisen. Die Versuche sind genau beschrieben, einschließlich der Ermittlung optimaler Bedingungen für den Trenngang. Abbildungen, Tabellen und Kurven belegen die Befunde.

[1] Arch. Biochem. Biophysics **81**, 223—237 (1959). Cornell Univ. u. Columbia Univ., New York (USA). E. MÜLLER, Würzburg

Die Isolierung und Bestimmung der Zuckerkomponente von Pyrimidinnucleosiden und -nucleotiden nach der Reduktion beschreiben L. HAAVALDSEN, S. LALAND, J. MCKINLEY MCKEE und E. ROTH[1]. Eine Anzahl Nucleoside und Nucleotide werden durch Behandlung mit Natriumamalgam quantitativ reduziert und dabei die Zuckerkomponente (Ribose oder Desoxyribose) abgespalten. Die Vollständigkeit der Reaktion wird einmal dadurch bewiesen, daß die Absorption

bei 260 nm verschwindet, zum anderen dadurch, daß sich die Zucker colorimetrisch bestimmen oder sogar isolieren lassen. — *Arbeitsweise. Reduktion.* Die Nucleoside oder Nucleotide werden in Wasser gelöst (4 mg/ml) und vorsichtig 3—4 Std bei Zimmertemperatur mit 3%igem Natriumamalgam (0,125 g/ml) geschüttelt. Bei manchen Substanzen (Uridinnucleotide, Thymidinsäure und Thymidindiphosphat) ist eine Wiederholung der Prozedur notwendig. — *Ribose* wird in den so reduzierten Lösungen mit Orcin nach A. H. Brown[2], Desoxyribose mit Diphenylamin nach K. Burton[3] bestimmt. — *Isolierung von Desoxyribose aus Thymidin.* Man schickt die reduzierte Lösung über eine Amberlite IR 120 (H)-Kolonne (1,5×12 cm), wäscht mit Wasser nach, unterwirft das Eluat der Gefriertrocknung und reinigt den Rückstand durch Rundfilterchromatographie (Whatman 3MM, Butanol-Äthanol-Wasser, 4:1:5). Der Desoxyribose-Streifen wird eluiert und gefriergetrocknet. Der zurückbleibende Sirup kristallisiert nach Animpfen im Exsiccator über Phosphorpentoxyd.

[1] Biochim. biophysica Acta (Amsterdam) **33**, 201—206 (1959). Univ. Blindern, Oslo (Norwegen). — [2] Arch. Biochemistry **11**, 269 (1946). — [3] Biochemic. J. **62**, 315 (1956). Ursula Baumann

Über eine chromatographische Trennung der Gesamtcerebroside und Sulfatide aus Rattengehirnen an Aluminiumoxyd berichten C. Long und D. A. Staples[1]. Das Gewebe wird mit 19 Volumina eines Chloroform-Methanol-Gemisches (2:1) homogenisiert, mit 0,1 m Kaliumchloridlösung gewaschen und die Chloroformphase auf eine Aluminiumoxydsäule (17×1 cm, 13 g Füllung) aufgebracht. Zunächst werden Cholesterin, die Triglyceride und Phospholipide mit Chloroform-Methanol (1:1) ausgewaschen. Dann wird stufenweise (gradient elution) mit 125 ml Chloroform-Methanol (1:1) und 150 ml Chloroform-Methanol-Wasser (45:45:10) eluiert. In den Fraktionen 3—9 (je 25 ml) sind die Gesamtcerebroside und Sulfatide frei von Cholesterin, Phosphor und Aminostickstoff vereinigt. Das Verhältnis Galaktose: Sphingosin-Stickstoff: Gesamtstickstoff ist 1:1:1, wie es der Theorie entspricht. Von der 10. Fraktion ab werden die Äthanolamin-haltigen Phospholipide eluiert.

[1] Biochemic. J. **73**, 7 P—8 P (1959). Royal College of Surgeons, Lincoln's Inn Fields, London (England). Ursula Baumann

Die papierchromatographische Analyse von Plasmalogenen, bei der die Hydrolyse durch die Essigsäure des Lösungsmittelsystems weitgehend vermieden wird, beschreiben M. H. Hack und V. J. Ferrans[1]. — *Arbeitsweise.* Aus *Herzgewebe von Ratte, Schwein, Rind, Hund, Affe oder Wirbellosen* wird mit Methanol-Chloroform-1:2 ein Gesamtlipoidextrakt hergestellt und 25 µl des Extraktes werden auf Whatman-Papier Nr. 1 aufgetragen, das mit Natriumsilicat imprägniert[2] und vor Gebrauch mit Chloroform-Methanol (2:1) aufsteigend gewaschen worden ist. Man chromatographiert mit Diisobutylketon-Essigsäure-Wasser (40:23:3) 2 Std bei 2° C und trocknet 20 min bei 2° C. Man erhält eine Trennung in zwei Hauptfraktionen (*Plasmalogenhaltiges Kephalin* und *Lecithin*), die mit den üblichen Methoden nachgewiesen werden können.

[1] Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. **315**, 157—162 (1959). Tulana Univ., New Orleans, La. (USA). — [2] Marinetti, G. V., u. E. Stotz: Biochim. biophysica Acta (Amsterdam) **21**, 168 (1956). Ursula Baumann

Eine Methode zur spektrophotometrischen Bestimmung von 3-o-Tolyloxy-1,2-propandiol (Mephenesin) und seines Stoffwechselproduktes in Plasma und Harn geben A. R. Maass, P. L. Carey und A. E. Heming[1] an. Es handelt sich um eine Modifikation der Methode von P. Stross und R. E. Stuckey[2]. Verff. schütteln aus Plasma und Harn bei p_H 7,5—8,5 mit Äther Mephenesin aus und dann bei p_H 3 das Stoffwechselprodukt von Mephenesin, 3-(o-Tolyloxy)milchsäure und messen die

Extinktion beider Extrakte bei 300 und 270 nm. Beim Einhalten der ausführlichen, und je nach Versuchsbedingung wechselnden Vorschrift gelingt es, frischem Plasma in einer Menge von 25—200 μg/ml zugesetztes Mephenesin zu 96,6 ± 5,82% wieder zu finden, bei älterem Plasma beträgt der Wert 106,5 ± 4,35%. Bei weniger als 25 μg/ml schwanken die Zahlen zwischen 80 und 120%. Zu frischem Plasma zugesetzte 3-(o-Tolyloxy)milchsäure findet man zu 100,1 ± 5,32% wieder.

[1] Analyt. Chemistry **31**, 1331—1334 (1959). Smith Kline a. French Labs., Philadelphia, Pa. (USA). — [2] J. Pharmacy Pharmacol. **2**, 549 (1950).

E. Müller, Würzburg

Eine Methode zur Bestimmung von Sialinsäuren mit Thiobarbitursäure gibt L. Warren[1] an. Verf. wertet die Erfahrungen aus, die V. S. Waravdekar und L. D. Saslaw[2] bei der Bestimmung von 2-Desoxyribose und A. Weissbach und J. Hurwitz[3] bei der von 2-Keto-3-desoxyzuckersäuren gewonnen haben. Nach Ermittlung optimaler Bedingungen ergibt sich ein empfindliches Verfahren, das reproduzierbare Werte liefert, die mit denen andererer, umständlicher Methoden gut übereinstimmen, und das außerdem spezifischer ist, so daß die Bestimmungen direkt im Gewebshydrolysat vorgenommen werden können. — *Ausführung.* 0,2 ml Probe, die bis 0,05 μMol N-Acetylneuraminsäure entsprechen, versetzt man mit 0,1 ml 0,2 m Natriummetaperjodatlösung in 9 m Phosphorsäure, schüttelt und läßt 20 min stehen. Man fügt 1 ml einer 10%igen Natriumarsenitlösung in 0,5 m Natriumsulfatlösung, die 0,1 n an Schwefelsäure ist, hinzu und schüttelt bis die gelb-braune Farbe verschwunden ist. Nach Zugabe von 3 ml 0,6%iger Thiobarbitursäurelösung in 0,5 m Natriumsulfatlösung schüttelt man, bedeckt mit einer Glaskugel und erhitzt 15 min in einem kräftig siedenden Wasserbad. Man kühlt 5 min in kaltem Wasser, dabei kann sich die Farbe abschwächen und Trübung eintreten, was die Bestimmung nicht beeinträchtigt. 1 ml der Lösung oder die Gesamtmenge (4,3 ml) extrahiert man mit der gleichen Menge (1 oder 4,3 ml) Cyclohexanon, indem man 2 mal druchschüttelt und 3 min zentrifugiert. In der organischen Phase mißt man die Extinktion bei 549 nm in einer 0,6 ml- bzw. 3 ml-Küvette von 1 cm Lichtweg. Mit 0,2 ml Wasser statt Probe läuft genau so ein Blindansatz mit, gegen den man die Extinktion mißt. Der molare Extinktionskoeffizient von N-Acetylneuraminsäure ist $57\,000 \cdot \mu\text{Mol N-Acetylneuraminsäure} = V \cdot E_{549}/57 = 4{,}3 \cdot E_{549}/75 = 0{,}075 \cdot E_{549}$; wobei V das Endvolumen der Probe ist. Für 0,04 Mol N-Acetylneuraminsäure beträgt die Abweichung der Extinktion bei 14 Bestimmungen 0,9%.

[1] J. biol. Chemistry **234**, 1971—1975 (1959). Nat. Inst. Health, Bethesda, Md. (USA). — [2] Biochim. biophysica Acta **24**, 439 (1957); vgl. diese Z. **165**, 232 (1959). — [3] J. biol. Chemistry **234**, 705 (1959). E. Müller, Würzburg

Über die Bestimmung von Meprobamat (2-Methyl-2-n-propyl-1,3-propandioldicarbaminat) im Harn berichten G. H. Ellis und C. A. Hetzel[1]. Das Verfahren beruht darauf, daß viele wasserlösliche Verbindungen, so auch Meprobamate, die eine N-H-Gruppe aufweisen, bei p_H 10,5 und Raumtemperatur mit Hypochlorit Chlorderivate geben. Der Hypochloritüberschuß läßt sich mit Phenol in verd. Salzsäure beseitigen. Die „aktive" Chlorverbindung macht aus Kaliumjodid Jod frei, das als Kaliumtrijodid oder als Jodstärke spektrophotometrisch bestimmt wird. Aus Harn muß Meprobamat erst mit Äther extrahiert werden, da andere Substanzen mit einer N-H-Gruppe stören würden. Zum Harn zugesetztes Meprobamat finden Verff. zu 82—87% wieder. In den gleichen Harnproben, in denen der Durchschnittswert nach S. S. Walkenstein, C. N. Knebel, J. A. MacMullen und J. Seifter[2] 38,5 μg/ml beträgt, finden Verff. mit ihrer Methode 36,8 μg/ml.

[1] Analyt. Chemistry **31**, 1090—1091 (1959). Wyeth Inst. Med. Res., Radnov, Pa. (USA). — [2] J. Pharmacol. exp. Therapeut. **123**, 254 (1958). E. Müller, Würzburg

Eine photometrische Mikromethode zur Bestimmung von Cholinesterase teilen D. E. McOsker und L. J. Daniel[1] mit. Die Methode beruht darauf, daß die SH-Gruppe, die nach der Hydrolyse von Acetylthiocholin frei wird, mit Nitroprussidnatrium bestimmt wird. — *Ausführung.* In ein 15 ml-Zentrifugenglas pipettiert man 0,20 ml 0,015 m Acetylthiocholinjodidlösung, 0,50 ml 0,125 m Tris-(hydroxymethyl)-aminomethanpufferlösung von p_H 7,4, 0,20 ml 3,5 m Natriumchloridlösung und füllt mit Wasser auf 1,30 ml auf. Nach Einstellen auf 37° C fügt man 0,10 ml Gewebshomogenat hinzu und nach 10 min 0,10 ml einer 25%igen (G./V.) Trichloressigsäurelösung. (Bei Gesamtblut muß man 0,10 ml 50%ige Säure nehmen, sie stört die folgende Sulfhydrylgruppenbestimmung nicht.) Man zentrifugiert etwa 5 min und benutzt einen aliquoten Überstandsteil für die modifizierte Bestimmung nach R. R. Grunert und P. H. Phillips[2]. In eine 3,0 ml-Küvette pipettiert man 2,0 ml gesätt. Natriumchloridlösung, 0,4 ml einer Na_2CO_3-NaCN-Lösung (21,2 g wasserfreies Natriumcarbonat und 0,44 g Natriumcyanid/100 ml) und 0,4 ml Nitroprussidnatriumlösung (27 mg/ml). Nach Mischen setzt man sofort 0,2 ml der Probe (Überstand) hinzu und mißt die Extinktion genau 30 sec später bei 520 nm. Entsprechende Blindansätze, einmal ohne Enzym und einmal ohne Substrat, laufen mit.

[1] Arch. Biochem. Biophysics **79**, 1—7 (1959). Cornell. Univ. Ithaca, New York (USA). — [2] Arch. Biochem. Biophysics **30**, 217 (1951). E. Müller, Würzburg

Eine schnelle und empfindliche spektralphotometrische Methode zum Nachweis von Chymotrypsin unter Verwendung von N-Carbobenzoxy-L-tyrosin-nitrophenylester als Testsubstrat, beschreiben Ch. J. Martin, J. Golubow, A. E. Axelrod und A. R. Frazier[1]. Die katalytische Wirkung des Fermentes kann entweder am Verschwinden des Esters (Messung bei 275 nm) oder am gebildeten Nitrophenol (400 nm) gemessen werden (hier in einem Beckman-Spektralphotometer DU mit temperaturkonstantem Küvettenfach). Der molare Extinktionskoeffizient des Esters ist innerhalb p_H 6,5—8,5 p_H-unabhängig, während der Extinktionskoeffizient von p-Nitrophenol erst im alkalischen Gebiet einen Höchstwert erreicht. Unter den Meßbedingungen sind die Lichtabsorption des Testsubstrats und die des ionisierten Nitrophenols den Konzentrationen proportional. — *Meßmethode.* Man gibt nacheinander in eine 1 cm-Küvette: 0,35 ml Methanol, 1,00 ml 0,3 m Calciumchloridlösung, 0,50 ml 0,2 m Tris-(hydroxymethyl)-aminomethan-Puffer (meist p_H 8,0), 0,85 ml Wasser, dann nach 5 min 0,20 ml Enzymlösung (in 0,12 m Calciumchloridlösung gelöst) und nach einer weiteren Minute 0,10 ml Substratlösung. Das Substrat wird für eine Messung bei 400 nm in Aceton, für eine bei 275 nm in Dioxan gelöst. Die Konzentration beträgt etwa $4 \cdot 10^{-5}$ m. Man hält die Versuchstemperatur auf 30° C. Die Messung bei 400 nm erfolgt gegen Wasser, die bei 275 nm gegen eine Blindlösung, die alle Komponenten außer dem Substrat enthält. Ausgewertet wird an Hand von Eichkurven. — *Herstellung des Substrates.* 5 g gereinigtes L-Tyrosinäthylester-hydrochlorid werden mit 3,47 g Carbobenzoxychlorid nach der Methode von Parks und Plaut[2] behandelt. Man entfernt das Chloroform, setzt dem anfallenden Sirup Äthanol zu und erhält bei vorsichtiger Wasserzugabe den Carbobenzoxy-1-tyrosinäthylester in kristallisierter Form. FP 88,0—88,5° C, Ausbeute 4,25 g. Zu einer Lösung von 1,58 g dieser Substanz in 10 ml Dioxan gibt man unter Wasserausschluß und Rühren zunächst 1,19 ml Tributylamin in 5 ml Dioxan, dann 0,65 ml Äthylchloroformat in 5 ml Dioxan. Die Temperatur soll 6—8° C nicht übersteigen. Nach 30 min setzt man 0,70 g Nitrophenol zu und rührt 1 Std weiter. Das Dioxan wird im Vakuum verdampft, das zurückbleibende Öl in Chloroform aufgenommen, zunächst mit 1 n Salzsäure gesätt. Natriumhydrogencarbonatlösung, dann mit 1 n Salzsäure und schließlich

mit Wasser gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Man dampft das Chloroform im Vakuum ab und setzt dem Öl Methanol bis zur beginnenden Kristallisation zu. Nach 2maligem Umkristallisieren aus heißem Chloroform erhält man den n-Carbobenzoxy-L-tyrosin-p-nitrophenylester $C_{23}H_{20}O_7N_2$ als weiße Substanz FP 158—159° C, $[\alpha]^{28} + 3{,}2°$ (1% in Dioxan), $-16{,}3°$ (1% in Aceton).

[1] J. biol. Chemistry **234**, 294—298 (1959). Biochem. Dept., Univ., School of Med., Pittburgh, Penn. (USA). — [2] Parks, R. E., and G. W. E. Plaut: J. biol. Chemistry **203**, 755 (1953). Ursula Baumann

Über eine einfache colorimetrische Methode zur Bestimmung von Serumspeudocholinesterase berichten R. L. Smith, H. Loewenthal, H. Lehmann und E. Ryan[1]. Es handelte sich um eine Variante der mehrfach beschriebenen Methoden, bei denen Phenylbenzoat als Substrat dient. Die Modifikation der Verff. besteht darin, daß das frei gewordene Phenol mit dem Reagens von Folin und Ciocalteu bestimmt wird. Für die Zusammensetzung dieser Reagenslösung und einiger anderer Lösungen ist auf E. J. King[2] verwiesen.

[1] Clin. chim. Acta (Amsterdam) **4**, 384—390 (1959). Chase Farm Hosp., Enfield, Middlesex u. St. Bartholomew's Hosp., London (England). — [2] Micro-analysis in Medical Biochemistry, 3rd edit., Churchill, London 1956. E. Müller, Würzburg

Eine Mikrobestimmung von Glutaminsäure-Oxalessigsäuretransaminase (GOT) im Blutserum teilen F. Hermann, M. H. Brookes und C. A. Storvick[1] mit. Es handelt sich um eine Modifikation der Methode von A. Karmen[2]; man benötigt statt 600 µl nur 60 µl Serum. — *Ausführung.* In dreifachem Ansatz gibt man in ein 10,75 mm-Reagensglas 10 µl Äpfelsäuredehydrogenase (siehe unten), 30 µl reduziertes Diphosphopyridinnucleotid (siehe unten), 50 µl Asparaginat (siehe unten) und 170 µl Phosphatpufferlösung (siehe unten). Nach Schütteln fügt man 20 µl Serum hinzu und läßt 30 min stehen. Man setzt 20 µl α-Ketoglutarat (siehe unten) zu, schüttelt vorsichtig und pipettiert in Mikroküvetten. Zu Beginn (t_1) und am Ende (t_2) der 20 min Ableseperiode mißt man die Temperatur. Bei 340 nm und 1,3 mm Schlitzbreite mißt man alle 3 min von der 2. bis zur 20. min die Extinktion gegen eine 0,00025 n Kaliumdichromatlösung (siehe unten). Die Ablesungen trägt man zur Kontrolle der Linearität auf Koordinatenpapier auf. Die Extinktion (D_2) bei 20 min zieht man von der (D_1) bei 2 min ab und berechnet die Transaminaseeinheiten nach der Formel von D. Steinberg, D. Baldwin und B. H. Ostrow[3]: GOT-Einheiten/ml $= (D_1 - D_2)/(t_2 - t_1) \cdot (1/\text{ml Serum}) \cdot (1/f_T) \cdot (1/f_P) \cdot 1000$. Darin ist f_T der Temperaturfaktor nach[3] und f_P der Lichtweg. — *Phosphatpufferlösung von* pH 7,4. Man löst 28,89 g K_2HPO_4 und 4,5 g KH_2PO_4 in Wasser. füllt auf 1 Liter auf und hebt im Kühlschrank auf. — *Natrium-L-asparaginatlösung,* 2,662 g L-Asparaginsäure löst man in 70 ml Pufferlösung, stellt mit 1 n Natronlauge auf pH 7,4 ein und füllt mit Pufferlösung auf 100 ml auf. In kleinen Mengen gefroren aufbewahren. — *Reduzierte Diphosphopyridinnucleotidlösung.* 7,5 mg DPNH löst man in 10 ml Pufferlösung und hebt in gefrorenem Zustand auf. — *Äpfelsäuredehydrogenaselösung.* 70000—100000 E des Fermentes, Typ II (Sigma), versetzt man mit 10 ml etwa 0,7%iger gesätt. Ammoniumsulfatlösung und hebt in kleinen Portionen gefroren auf. Vor Gebrauch verdünnt man mit Pufferlösung auf 800 E. — *Natrium-α-ketoglutaratlösung.* 1,47 g α-Ketoglutarsäure löst man in 70 ml Pufferlösung, stellt mit 1 n Natronlauge auf pH 7,4 ein, füllt mit Pufferlösung auf 100 ml auf und hebt in kleinen Portionen gefroren auf. — *0,00025 n Kaliumdichromatlösung.* 36,8 mg $K_2Cr_2O_7$ löst man in Wasser zum Liter.

[1] Clin. Chemistry **5**, 57—61 (1959). Robert A. Taft Sanitary Engng. Center, Cincinnati, Ohio (USA). — [2] Clin. Invest. **34**, 131 (1955). — [3] J. Lab. clin. Med. **48**, 144 (1956). E. Müller, Würzburg